ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
ET DE MICROBIOLOGIE

TOME 8 *N° 2* *JUIN 1935*

MÉMOIRES ORIGINAUX

OBSERVATIONS SUR LA MÉTAMORPHOSE DES *CHIRONOMUS GENUINUS* (1)

par

Victoria G. IUGA

Chef de travaux au Laboratoire de Morphologie animale,
Université de Bucarest.

I. — *TROPHOCYTES*

A la fin de la période larvaire, le tissu graisseux des larves constituant la section de *Chironomus genuinus* (qui ont de l'hémoglobine dissoute dans leur plasma sanguin) se trouve bourré de deux sortes d'inclusions protoplasmiques : des boules lipoprotéiques constituant une réserve et des concrétions biliaires colorées en vert ou brun acajou, de nature excrétrice. Nous avons décrit antérieurement (1932) les mécanismes sécrétoires par lesquels sont accumulées, dans le protoplasme des cellules grasses, ces deux sortes d'inclusions, déterminant leur nature chimique

(1) Travail reçu en février 1935.

et leur position dans le métabolisme général de l'organisme. A cause de leurs fonctions complexes, qui font de ces éléments des cellules glandulaires de type excréteur accumulatif, en même temps que des cellules sécrétoires emmagasinant des réserves lipo-protéiques, nous avons préféré les désigner par le nom plus approprié de trophocytes (Berlese). Nous les avons homologués encore, vu leur origine et leur fonction de régulateurs de la composition du plasma sanguin, aux cellules réticulo-endothéliales décrites par Aschoff chez les Vertébrés.

Scheer (1934) croit que le pigment vert, contenu dans les cellules graisseuses des larves de la section de *Chironomus genuinus,* n'est pas de la biliverdine, n'ayant pas réussi à obtenir à son niveau la réaction de Gmélin : en traitant les cellules grasses par de l'acide nitrique à 70 %, les granules vertes se sont simplement décolorées. Nous avons pourtant mentionné les conditions essentielles pour la réussite de la réaction de Gmélin sur les cellules contenant des concrétions biliverdiniques : l'acide nitrique doit être concentré et sa pénétration doit être lente et progressive. Après avoir couvert le tissu d'une lamelle, on y dépose une goutte d'acide nitrique (l'expérience réussit mieux si l'on emploie de l'acide nitrique-nitreux), et on suit la réaction au microscope. Dès que les concrétions biliverdiniques viennent en contact avec l'acide nitrique, elles changent de couleur, devenant d'un beau vert de chlorophylle, puis cette couleur vire au bleu de plus en plus intense jusqu'au bleu foncé, puis en violet de plus en plus rougeâtre jusqu'au rouge, en brique, en orangé, en brun pâle, qui est la couleur de tous les tissus qui ont subi l'action de l'acide azotique. Ces changements de coloration peuvent se poursuivre, suivant les cas, pendant un temps variant entre deux et vingt minutes. Employée de cette manière, nous avons presque toujours obtenu la gamme colorée typique de la réaction de Gmélin sur les éléments renfermant des concrétions biliaires, chez les larves de Chironomides comme chez les Hirudinées. Si le contact entre les tissus à examiner et l'acide nitrique concentré est trop brusque, — si l'on dépose par exemple une goutte d'acide sur le tissu en couvrant ensuite d'une lamelle, — on n'obtient, la plupart du temps, pas de gamme colorée, les granulations biliaires se décolorant après un certain temps. On obtient la même décoloration des granules biliaires, non précédée de changement de coloration, en employant de l'acide azotique dilué.

Scheer reconnaît pourtant dans le pigment vert des Chirono-

mides à hémoglobine un des dérivés de la chlorophylle, mais il ne peut en déterminer son exacte nature. Il est de toute évidence, d'ailleurs, que cet auteur ne connaît pas notre travail concernant la nature des concrétions pigmentaires, contenues dans le tissu graisseux des larves de *Chironomus genuinus*, se contentant de commenter à ce sujet une note de M. Comas, parue, en 1927, dans les *Comptes rendus de la Société de Biologie de Paris*.

Nous maintenons donc l'affirmation que les concrétions pigmentaires, accumulées dans le vacuome du tissu trophique des larves de *Chironomus genuinus* au cours de la période larvaire, représentent des déchets, de nature biliaire. L'organisme de ces larves est incapable d'éliminer à l'extérieur les fragments pyrroliques, résultés pendant la destruction de la molécule hémoglobinique. Pour épurer sa circulation générale de ces produits, il est obligé de les fixer sous la forme insoluble de concrétions biliaires dans le protoplasme de ses éléments trophiques. Cette fixation est définitive, car une fois déposés dans le protoplasme, les pigments biliaires ne rentrent plus jamais dans le métabolisme général, même pendant la métamorphose, lorsque la plupart des tissus sont détruits par histolyse. Les recherches actuelles confirment et complètent nos résultats antérieurs.

Les trophocytes emmagasinent encore dans leur protoplasme des réserves, de nature lipo-protéique, élaborées sur des plastes d'origine chondriosomique. Elles sont constituées par un mélange de matières protéiques constituant l'insaponifiable, et de substances grasses du type des huiles non-siccatives de la classification de Timon David (1928). Ces huiles non-siccatives ont une couleur naturelle jaune, et sont constituées par de l'acide oléique en majeure partie et d'autres acides moins saturés, les acides saturés se trouvant en de faibles proportions. La présence de l'acide oléique se manifeste dans la composition des sphérules lipo-protéiques par leur consistance liquide, leur couleur naturelle jaune, leur brunissement sous l'action de l'acide osmique. C'est d'ailleurs l'acide oléique qui est le plus souvent emmagasiné comme réserve par les insectes (Timon David).

Même pendant la vie larvaire, ces réserves n'ont qu'une existence transitoire, leur apparition n'ayant rien de définitif. Elles peuvent être solubilisées et remises dans la circulation générale, par le trophocyte même, au cours des périodes de jeûnes accidentels, ou durant l'hibernation. Pendant cette solubilisation les sphérules lipo-protéiques fondent d'une manière progressive et disparaissent sans laisser de traces. On n'observe pas, durant

cette solubilisation, de réactions colorantes spéciales pouvant indiquer si ces plastes se trouvent dans leur phase ascendante (d'élaboration des réserves), ou bien dans leur phase descendante (de solubilisation des produits emmagasinés).

La quantité des réserves accumulées dans les trophocytes atteint des maxima en automne et aux approches de la nymphose. Durant la métamorphose, une bonne partie des réserves est solubilisée dans le protoplasme élaborateur pour servir à l'histogénèse des nouveaux organes, édifiés pendant cette période. Se trouvant en plein procès de solubilisation, les sphérules lipo-protéiques sont très fragiles, résistant moins bien aux manipulations techniques de fixation : on les trouve moins bien conservées, parfois même disparues sur les préparations microscopiques, obtenues par les mêmes procédés, qui nous avaient donné de bons résultats sur le matériel larvaire. La figure 10 (pl. IV) représente une agglomération de trophocytes superficiels, bien conservés, chez une nymphe à peine sortie de son fourreau larvaire, fixés par le liquide de Ciaccio et colorés par la fuchsine acide - vert de méthyle. Ces trophocytes se sont individualisés (sur le vivant le tissu trophique est à l'état syncytial) sous l'action du fixateur. Ils sont bourrés d'inclusions biliverdiniques, brunies par le bichromate de K. Les sphérules lipo-protéiques sont assez rares, ces trophocytes ayant déjà consommé la majorité de leurs réserves. Elles n'ont pas été pourtant dissoutes par le fixateur, car des vacuoles vides eussent attesté leur ancienne présence dans le protoplasme.

II. — *PHAGOCYTOSE DU TISSU TROPHOCYTAIRE*

Conduit par les observations de Metchnikoff (1883) sur la phagocytose, Kowalewsky (1885-87) fut le premier à décrire le rôle des phagocytes dans la destruction des cellules grasses, pendant la nymphose. Avant lui, van Rees (1884-88) avait cru observer la désagrégation des cellules grasses par immigration de leucocytes dans leur protoplasme. L'auteur hollandais, selon la remarque de Pérez (1910), a confondu les leucocytes avec les inclusions propres de la cellule grasse (avec les inclusions albuminoïdes à « urates », décrites par Berlese sous le nom de pseudo-nucléi). Les observations de Kowalewsky furent faites justement chez

les Diptères, sur les pupes des Mouches du troisième et du quatrième jour. En les débarrassant de leur cuticule durcie, il réussit à les conserver vivantes pendant 24 heures dans du blanc d'œuf, et à suivre par transparence les phénomènes de phagocytose. Il a pu voir les leucocytes, dénommés à cette époque « sphères de granules », — les « *Körnchenkugeln* » de Weismann (1864), — s'accoler aux cellules grasses, en les entourant complètement. L'ensemble présente l'aspect d'un œuf segmenté, au stade de morula. Les phagocytes pénètrent, après un certain temps, dans le corps de la cellule grasse et la disloquent en plusieurs « sphères de granules », qui se dispersent. La cellule grasse a été détruite par un processus phagocytaire à l'aide des leucocytes. Mercier (1906) et Pérez, chez les Fourmis en (1902) et chez les Mouches en (1910), montrèrent que ce ne sont pas les « sphères de granules » qui phagocytent les cellules grasses, mais bien des leucocytes à jeun, non chargés d'inclusions; les « sphères de granules » sont le résultat de cette phagocytose, c'est-à-dire représentent des leucocytes qui se sont chargés des inclusions de la cellule grasse. Pérez met en évidence l'intégrité protoplasmique des cellules grasses au moment de la phagocytose, critiquant l'opinion de Mercier, qui avait cru observer une dégénérescence précédant l'englobement des cellules grasses par les leucocytes. Selon Pérez les inclusions de la cellule grasse sont extrêmement vite digérées dans le cytoplasme phagocytaire; il ne décrit pas de restes indigérables, persistant dans le cytoplasme des phagocytes. Pérez constate aussi une spécialisation parmi les phagocytes; les « sphères de granules » à sarcolytes (chargés des produits de la destruction musculaire) ne s'insinuent jamais à l'intérieur des cellules grasses intactes. Lorsque ces inclusions sont accidentellement élibérées, à la suite de la désagrégation mécanique d'une cellule grasse, une « sphère de sarcolytes » peut englober aussi des inclusions graisseuses ou albuminoïdes, propres à l'activité spécifique du tissu graisseux. Chez les Mouches, le tissu graisseux n'est que partiellement détruit pendant la nymphose. La majorité de ce tissu persiste intact durant toute la métamorphose, se transmettant à l'imago qui vient d'éclore. Durant la métamorphose, les cellules adipeuses rompent leurs adhérences mutuelles, devenant flottantes dans le liquide cavitaire, suivant l'opinion de Pérez. Pendant cette élibération, elles sont d'une fragilité extrême, mais gardent pourtant leur intégrité protoplasmique, n'étant pas détruites par histolyse. Vers la fin de la nymphose, les cellules grasses se réagglomèrent pour constituer le tissu trophique ima-

ginal. L'adulte hérite ainsi de la majorité des réserves accumulées par la larve dans son tissu trophique. Pendant la vie libre de l'insecte parfait, les cellules grasses solubilisent d'abord les urates (déposés, selon PÉREZ, comme excreta à l'intérieur de leurs inclusions albuminoïdes durant la métamorphose) qui, élibérés dans le sang, sont éliminés par l'activité des tubes de Malpighi redevenus fonctionnels, et plus tard, leurs réserves représentées par les inclusions albuminoïdes et les sphérules grasses. La taille de ces cellules diminue énormément, elles se rapetissent et sont entourées par des leucocytes, qui leur constituent une enveloppe rappelant le follicule enveloppant l'ovule. Le noyau dégénère et les leucocytes, constituant le follicule, phagocytent cette cellule atrophiée. Cette phagocytose ne commence que lorsque la cellule grasse a terminé son activité propre : élimination des urates (déposés transitoirement dans son protoplasme), restitution des réserves accumulées.

POYARKOFF (1910) étudiant la métamorphose du coléoptère *Galeruca luteola* Müller, trouve que la plupart des tissus larvaires passent de la larve à l'imago, après avoir rejeté, par autotomie cellulaire, les portions les plus spécialisées de leur protoplasme. Les débris d'autotomie sont ensuite phagocytés par toute une série d'éléments, capables d'englober dans leurs protoplasme des inclusions figurées et de leur faire subir la digestion intracellulaire. Poyarkoff distingue 5 espèces de phagocytes : les leucocytes phagocytaires, les cellules graisseuses, les cellules épithéliales de l'intestin moyen, les cellules de remplacement de cet intestin, les cellules des tubes de Malpighi. Il explique cette particularité par le fait d'une spécialisation moins accentuée des Coléoptères, qui fait que « certains de leurs tissus ont gardé leur propriété de digestion intracellulaire primordiale ». De cette énumération, on constate que l'auteur attribue aux cellules grasses un pouvoir phagocytaire. Il décrit à l'intérieur des cellules grasses des débris provenant de différents tissus histolysés tels que muscles, tubes de Malpighi, glandes salivaires. L'auteur décrit, parmi les éléments phagocytés par les leucocytes durant la métamorphose, certaines cellules graisseuses présentant aussi un noyau en voie de chromatolyse ou de pycnose, à la suite des conditions défavorables où elles se trouvent, resserrées qu'elles sont entre les tissus imaginaux en édification.

A. HUFNAGEL (1918), étudiant la métamorphose du lépidoptère *Hyponomeuta padella* L., attribue aux cellules grasses un rôle phagocytaire, quoique le phénomène ne lui apparaît pas avec la

netteté qu'elle prétend avoir observé chez *Gracilaria syringella*. Parmi les éléments propres du sang, HUFNAGEL remarque aussi des leucocytes à inclusions grasses, présentes durant la métamorphose, manquant chez l'imago et la jeune larve, dont elle fait une catégorie spéciale.

BOISSEZON (1930), chez les diptères *Culex pipiens* L. et *Theobaldia annulata* M., trouve que le tissu adipeux larvaire est détruit seulement partiellement durant la métamorphose, l'adulte l'héritant dans sa majorité et employant ses réserves durant le jeûne hivernal et la maturation des produits sexuels. Il mentionne le fait, sans insister sur la manière dont s'effectue la destruction du tissu adipeux durant la période nymphale. Il distingue un tissu adipeux thoracique, riche en réserves grasses et albuminoïdes et renfermant peu d'excreta, et un tissu adipeux abdominal, bourré de concrétions puriques et assez pauvre en réserves. Il croit que le tissu adipeux fonctionne comme rein d'accumulation pour les urates, surtout pendant la période nymphale et chez l'insecte adulte. Il constate que les concrétions puriques, extrêmement abondantes durant la métamorphose, sont relativement rares chez l'imago, qui vient d'éclore. BOISSEZON n'a pas réussi à déterminer la voie, par laquelle s'effectue l'épuration de l'organisme d'une partie de ses déchets uriques, accumulés sous une forme insoluble dans son tissu trophique. Conduit par les observations de BRUNTZ (1904) chez les Orthoptères, et de MILLOT (1926) chez les Arachnides, qui ont constaté l'élimination de déchets puriques par voie tégumentaire lors des mues, BOISSEZON examine les dépouilles larvaires et nymphales, sans obtenir toutefois les réactions caractéristiques de ces corps. Il ne peut non plus se rallier à l'opinion de PÉREZ, qui admet que c'est par les tubes de Malpighi que sont évacués les déchets accumulés dans le tissu adipeux. Il fait remarquer que ces produits, étant insolubles, ne peuvent plus repasser dans la circulation générale, et qu'il n'existe pas d'autre part de communication directe entre les tubes de Malpighi et le tissu trophique. Ceux-là ne peuvent éliminer que les déchets uriques dissous dans l'hémolymphe. Les trophocytes fixent ces déchets, quand l'activité seule des tubes de Malpighi est incapable de débarrasser l'organisme de la totalité de ces produits, comme dans les diathèses uriques de la pathologie humaine, lorsque les éléments des « tophi goutteux » emmagasinent sous la peau des dépôts uriques, pour les soustraire ainsi au métabolisme général.

On constate, en passant en revue cet historique, que si, dans

les travaux anciens, les auteurs (Kowalewsky, en 1885 et 1887 ; Mercier, en 1906 ; Pérez, en 1902 et 1910) admettent que le tissu adipeux est détruit par phagocytose, plus tard on a attribué au tissu trophique des propriétés phagocytaires (Poyarkoff, en 1910, et Hufnagel, en 1918). Boissezon (1930) ne fut pas préoccupé par les phénomènes caractérisant la métamorphose. D'ailleurs, ayant observé, lors des cas de parasitisme, la faible défense phagocytaire des Culcidés, il attribue aux phagocytes libres du sang un rôle peu important dans la vie des Arthropodes, se ralliant aux opinions de Metchnikoff (1892) chez les Coléoptères, de Balbiani (1890) et de Cuénot (1895) chez les Orthoptères. Il restait donc à déterminer par quel processus est détruite, durant la métamorphose, une partie du tissu adipeux larvaire et la voie par laquelle sont éliminés de l'organisme les déchets insolubles, fixés par l'activité propre des éléments trophiques.

Les nymphes des Chironomides mènent la même vie aquatique libre que leurs larves. La période d'immobilisation est de courte durée (24-48 heures approximativement, à la température de la chambre), et correspond à l'exuviation du fourreau larvaire et au durcissement du nouveau tégument. La période nymphale ne dure d'ailleurs pas longtemps : au bout de deux jusqu'à quelques jours, suivant les espèces (à la température de 15-20° C.), l'adulte quitte le fourreau nymphal et commence sa vie aérienne, qui elle aussi n'est pas très longue (deux à trois semaines).

Dans les derniers temps de la vie larvaire, on peut apercevoir sous la cuticule larvaire les futurs organes propres au stade nymphal (filaments branchiaux et cuticule ornementée). La nymphe s'organise donc sous l'ancienne cuticule, la larve continuant à mener une vie active. Dans les derniers temps de sa vie larvaire, l'animal ne prend plus de nourriture, évacue le contenu de son tube digestif. Finalement, l'animal s'immobilise pour rejeter la cuticule larvaire. D'ailleurs les trois étapes de la vie d'un insecte se trouvent emboîtées chez les Diptères, certains futurs organes de l'imago (muscles des ailes, par exemple) commençant leur édification durant les derniers temps de la vie larvaire.

Comme la place où vont s'édifier les muscles moteurs des ailes est occupée par du tissu trophique, sa destruction par phagocytose est amorcée durant les derniers temps de la période larvaire. Cette destruction, commencée dans la future région thoracique de l'imago, progresse d'avant en arrière. Les phagocytes,

comme tous les globules sanguins chez les Insectes, dérivent de petits éléments germinatifs à cytoplasme réduit, entourant un gros noyau (les *proleucocytes* de HOLLANDE, 1909-1911). Ces éléments germinatifs se multiplient activement par division directe. Les leucocytes, manifestant des propriétés phagocytaires, appartiennent au type des *micronucléocytes* de PAILLOT (1933), c'est-à-dire ce sont des éléments à petit noyau, à cytoplasme faiblement basophile, qui contient même à jeun de petites granulations éosinophiles. Ils renferment aussi divers produits figurés, englobés par phagocytose. Le phagocyte est donc capable d'incorporer dans son protoplasme des inclusions étrangères figurées, pour les transporter ou les solubiliser. C'est à ce titre que figurent dans son protoplasme : globules graisseux, plastes albuminoïdes, boules de sarcolytes, pigments divers, concrétions puriques, cristaux différents, bactéries, etc.

Les micronucléocytes, détruisant le tissu adipeux chez les *Chironomus genuinus,* se présentent, sur le vivant, avec un cytoplasme fluide et très peu réfringent; on ne peut en apercevoir de noyau. Ce sont des éléments globuleux, leurs dimensions variant à jeun entre 6,5 et 16 microns de diamètre. Leur volume s'accroît avec la charge d'inclusions incorporées, les phagocytes mesurant alors 23-30 microns de diamètre. Ils se déplacent dans le liquide circulant en roulant, sans se déformer. L'émission de pseudopodes est le signe de certaines conditions défavorables du milieu, ou bien lorsque le phagocyte s'insinue dans un passage trop étroit. De même la forme allongée en fuseau.

Pendant la phagocytose du tissu adipeux, on remarque les moments suivants. A la surface des nappes ou cordons adipeux à détruire, gardant morphologiquement toute leur intégrité, viennent se fixer les micronucléocytes libres du sang. Pendant un certain temps ces éléments adhèrent à la surface du tissu trophocytaire, les deux protoplasmes ne fusionnant pas. Et puis, brusquement, ce fusionnement a lieu, comme si, au point où les deux surfaces venaient en contact, il y avait eu rupture de l'équilibre électrique, abaissant la tension superficielle des deux protoplasmes. Les inclusions de la cellule trophique — boules lipo-protéiques et inclusions biliaires — passent dans le corps du phagocyte, dont on peut encore distinguer le contour mamelonné, à la surface du tissu, dont la résistance de sa tension superficielle fut vaincue. Sur le vivant, on constate que les deux protoplasmes différents ne se mélangent pas, même lorsque le phagocyte pénètre à l'intérieur du tissu trophique. Ce mélange

ne s'observe que sur les coupes histologiques, comme résultat de l'action des réactifs employés. D'ailleurs, même sur les coupes, le protoplasme phagocytaire se distingue la plupart du temps du tissu invadé, par ses propriétés de colorabilité différentes. L'englobement des inclusions étrangères n'est pas réalisé à l'aide de pseudopodes, mais bien par une sorte d'agglutination temporaire entre les deux protoplasmes différents, au bout de laquelle le phagocyte détache une portion donnée du tissu à détruire. Avec une masse accrue de toute la masse du protoplasme étranger englobé, le phagocyte se sépare du tissu, où il s'était fixé, reprend sa forme globuleuse et la plupart du temps sa vie d'élément libre. Dans le corps phagocytaire s'effectue la destruction des structures étrangères, dont les constituants solubilisés sont remis dans la circulation générale. La marche de la phagocytose du tissu trophique fut observée sur des nymphes de Chironomides qui viennent de se débarrasser de l'exuvie larvaire et dont le tégument, non encore pigmenté, permet encore l'observation par transparence sur l'animal vivant. Nous avons pu suivre les mêmes aspects sur les tissus dissociés et examinés dans de la solution de Ringer.

Nous avons représenté quelques aspects, observés durant la phagocytose du tissu trophique chez les *Chironomus genuinus*, sur les dessins de la planche I. Dans la figure 1 on remarque que les phagocytes *(ph.)*, fixés à la surface d'une nappe trophocytaire *(n. t.)*, ont réussi à vaincre la tension superficielle du tissu trophique et se sont emparés d'une partie de ses inclusions. L'élément *A* vient de commencer cette opération; les deux éléments *B* sont à sa fin. Les pseudopodes filiformes se trouvent du côté opposé à celui où l'agglutination des deux protoplasmes différents, trophocytaire et phagocytaire, s'est réalisée. Ils ne prennent donc aucune part au phénomène d'incorporation des particules étrangères figurées. Ils sont plutôt l'effet de l'étirement du protoplasme phagocytaire, exercé par la force de cohésion, maintenant réunies les inclusions du tissu trophique.

Après s'être emparé d'une certaine quantité du protoplasme trophique, le phagocyte se détache et reprend sa forme globuleuse. A la place de la nappe trophique précédente, on trouve quelques gros phagocytes chargés par les inclusions propres à ce tissu. La figure 2 représente deux de ces phagocytes, qui sont au commencement de leur travail de destruction, car ils ne contiennent que quelques inclusions biliverdiniques et boules lipoprotéiques. On peut faire une distinction entre les phagocytes

destructeurs des cordons trophiques profonds, et des phagocytes ayant englobé des nappes trophiques superficielles, d'après la taille respective de leurs inclusions biliaires. Dans les nappes superficielles ces inclusions sont petites, leur taille variant entre la limite de la visibilité et 1,5 micron, ayant une forme uniformément granulaire. Dans les cordons profonds ces inclusions sont beaucoup plus grosses, pouvant atteindre 4,5 microns, à forme variable : granules, isolés ou agglomérés, acicules, haltères, etc. On retrouve ces deux différences d'aspect parmi les inclusions contenues dans le protoplasme des phagocytes libres de l'hémolymphe. Les figures 2 et 3 nous montrent ces différences. Les phagocytes représentés dans la figure 2 ont détruit une nappe trophique superficielle, ceux de la figure 3 un cordon trophique profond, les inclusions propres à ce tissu s'y retrouvant avec leurs caractères distinctifs.

La charge respective englobée, les phagocytes commencent leur travail de solubilisation active des réserves lipo-protéiques. Celles-ci fondent dans le cytoplasme phagocytaire et disparaissent sans laisser de traces, de la même manière qu'elles étaient solubilisées dans le protoplasme du tissu trophique, lorsqu'une mobilisation de réserves était nécessaire. Il n'y a que la vitesse, avec laquelle s'accomplit ce phénomène dans les deux protoplasmes, qui varie, étant de beaucoup plus accentuée dans le phagocyte. D'ailleurs la solubilisation des réserves se poursuit activement dans le tissu trophique intact aussi. Elle est requise par les besoins de l'organisme pendant la métamorphose, lorsque s'accomplit l'histogénèse active des organes imaginaux.

Nous avons espéré pouvoir mettre en évidence les sphérules lipo-protéiques, en cours de solubilisation dans le cytoplasme phagocytaire, par des propriétés de coloration sélective, sur le vivant, ou sur les préparations histologiques. Elles ne se colorent pourtant par aucun des colorants vitaux employés, comme elles ne fixent jamais ces colorants lorsqu'elles sont contenues encore dans le protoplasme les ayant élaborées. Comme on ne peut décider, par l'emploi de ces colorants, si un plaste lipo-protéique trophocytaire se trouve dans sa phase ascendante (dépôt des réserves) ou dans sa phase descendante (solubilisation des produits accumulés), on ne peut mettre en évidence par une coloration vitale l'état de leur solubilisation dans le cytoplasme phagocytaire. Mais en général, on peut se rendre compte par l'aspect général de l'élément les renfermant, si ces inclusions se trouvent encore dans le tissu les ayant élaborées ou bien sont englobées

par phagocytose dans le protoplasme d'un élément étranger. Dans le tissu trophique les deux sortes d'inclusions — les réserves et les concrétions d'excrétion — sont excessivement nombreuses, bourrant, la plupart du temps, jusqu'à réplétion complète le cytoplasme incolore. Le phagocyte, au début de son activité, possède un cytoplasme incolore abondant et des inclusions relativement peu nombreuses (comparer le tissu trophocytaire *n. p.* de la figure 1, aux phagocytes détachés, dessinés dans la figure 2).

Les inclusions biliaires ne sont pas solubilisées par le cytoplasme phagocytaire ; elles persisteront durant toute la durée de l'élément, qui vient de s'en charger par phagocytose. L'élibération dans la circulation générale des produits biliaires, fixés à leur niveau, amènerait d'ailleurs l'intoxication de l'organisme. Une fois déposés dans le protoplasme trophocytaire, ces produits sont définitivement soustraits au métabolisme général, dans les conditions normales. Les concrétions biliaires subissent pourtant l'action oxydante du cytoplasme phagocytaire, la bilirubine étant transformée en biliverdine. En effet, on constate que si la larve contient des inclusions biliaires brunes, — et beaucoup de larves contiennent des concrétions bilirubiniques dans les nappes trophiques abdominales et des concrétions biliverdiniques dans le tissu trophique thoracique, — ses phagocytes trophocytaires ne contiennent jamais que des inclusions biliaires, colorées en vert. Sur le vivant les concrétions biliverdiniques gardent dans le cytoplasme phagocytaire leur aspect figuré.

Après avoir remis à la circulation générale les réserves accumulées dans le protoplasme trophique, les phagocytes répètent le processus de phagocytose décrit. Les réserves englobées sont solubilisées, tandis que les inclusions biliaires, définitivement insolubles, persistent dans le protoplasme phagocytaire. Peu à peu, le protoplasme de cet élément se remplit de concrétions biliaires insolubles, dont il ne peut s'en débarrasser. Chargé par ce ballast inutile, il perd ses propriétés phagocytaires. Les phagocytes sont devenus des éléments globuleux, mesurant 13-19 microns de diamètre, à protoplasme complètement rempli de concrétions biliaires, colorées naturellement en vert. Ces corpuscules sanguins ont été représentés dans les figures 4, 8 et 11. Les inclusions des phagocytes, dessinés dans la figure 8 (pl. III), proviennent des nappes trophiques superficielles; celles des éléments de la figure 4 (pl. I), des cordons trophiques profonds. Vers la fin de la métamorphose, le liquide cavitaire de la nymphe con-

tient une quantité énorme de ces éléments globuleux, libres, bourrés exclusivement d'inclusions biliverdiniques.

Il existe sûrement une spécialisation des phagocytes, quant à leurs possibilités de destruction des diverses structures larvaires. Nous n'avons jamais observé des phagocytes du tissu trophique, contenant d'autres inclusions que celles propres à ce tissu, c'est-à-dire des sphérules lipo-protéiques, d'une façon transitoire, et des inclusions biliaires permanentes. Cette spécialisation doit être comprise dans le sens que c'est par la charge englobée que le phagocyte est empêché d'incorporer un protoplasme à propriétés différentes. Dans des conditions exceptionnelles, il peut s'ensuivre que le même phagocyte puisse englober des inclusions de provenance différente, comme le soutiennent Poyarkoff (1910) et Hufnagel (1918), mais il ne nous fut pas possible de l'observer.

L'étude de la phagocytose du tissu trophique sur les coupes histologiques est difficile, car les réactifs fixent mal ces structures, à cause de leurs nombreuses et grosses inclusions lipo-protéiques. Nous nous sommes rendu compte, à la suite de nos prédécesseurs, combien il est malaisé de faire, sur des coupes histologiques, une étude exacte des phénomènes durant la métamorphose des insectes. La cuticule durcie ne permet plus du tout la pénétration des réactifs; si on l'enlève, la majorité des phagocytes libres est perdue pendant les manipulations histologiques; sur les coupes on n'en trouve qu'assez rarement, malgré leur nombre impressionnant durant la métamorphose.

Pendant cette période de solubilisation intense des réserves, les sphérules lipo-protéiques sont rarement conservées sur les préparations histologiques, et alors elles sont le plus souvent fortement déformées. La substance qui les constitue est parfois fixée comme une flaque, imprégnant le cytoplasme environnant. Les concrétions biliaires aussi, après avoir séjourné dans le corps phagocytaire, deviennent bien moins résistantes envers les réactifs histologiques, qui ne les conservent plus qu'imparfaitement, les solubilisant dans la plupart des cas. Les corpuscules sanguins à concrétions biliverdiniques apparaissent sur la plupart des coupes uniformément et faiblement colorés en brun, à cytoplasme faiblement et irrégulièrement granuleux, quoique, sur le vivant, ils contenaient les pigments biliaires sous une forme figurée. Parfois ces éléments, renfermant encore des restes lipo-protéiques, en plein procès de solubilisation, se colorent par la fuchsine acide sans aucune sélectivité.

Les réactifs histologiques ont encore un autre grave incon-

vénient, lorsqu'ils doivent élucider, à eux seuls, les phénomènes caractérisant la métamorphose. Ils produisent souvent le fusionnement de protoplasmas différents, dont la spécificité est moins accentuée à cause de l'état d'histolyse, phagocytose, dédifférenciation des structures morphologiques, repos fonctionnel, histogénèse, où se trouvent les tissus durant cette période d'intense remaniement. Poyarkoff (1910), chez les Coléoptères, attribue aux cellules grasses un pouvoir phagocytaire, ayant trouvé dans leur protoplasme des débris divers de tissus histolysés, tels que muscles, tubes de Malpighi, glandes salivaires. C'est à la foi du tableau infidèle de la métamorphose offert par des préparations histologiques défectueuses, que l'auteur attribue des propriétés phagocytaires à d'autres tissus aussi : cellules épithéliales de l'intestin moyen, cellules de remplacement, cellules malpighiennes, c'est-à-dire précisément aux tissus où il y a affluence de phagocytes durant la métamorphose. Hufnagel (1918) voit dans certaines boules chromatiques, contenues dans le protoplasme trophocytaire, des débris qui proviendraient de la destruction d'autres tissus, qui y ont été incorporés par phagocytose. Les figures qu'elle donne du phénomène ne sont pourtant pas suffisamment démonstratives pour reconnaître aux cellules grasses des propriétés phagocytaires. Nous sommes d'avis que ces boules chromatiques appartiennent au métabolisme propre de la cellule, représentant des excreta immobilisés sous une forme figurée dans le protoplasme trophique, qui furent entraînés partiellement hors de la cellule par les manipulations histologiques.

On ne peut donc arriver à une interprétation exacte des phénomènes caractérisant la métamorphose, uniquement par l'étude des préparations histologiques. La plupart du temps elles sont infidèles; celles qui sont réussies ne peuvent servir que de contrôle pour les observations faites sur le vivant. C'est ce qui nous a conduit à choisir un objet où les phénomènes de la phagocytose du tissu trophique peuvent être suivis sur le vivant, grâce à la transparence des téguments et à la coloration naturelle des produits qui y sont fabriqués.

L'englobement des particules figurées étrangères (grains de carmin, de charbon, bactéries), par les corpuscules libres du sang, est décrit de deux manières différentes par Metchnikoff et ses élèves, et par Levaditi, Paillot. Suivant la conception de Metchnikoff, le phagocyte émet vers le corpuscule étranger des pseudopodes (expansions protoplasmiques) qui l'entourent, le captent

et l'attirent ensuite dans le cytoplasme, où il est digéré à l'intérieur d'une vacuole. Levaditi fit observer que l'incorporation des inclusions étrangères n'est pas réalisée à l'aide d'émissions pseudopodiques, mais plutôt à la suite d'une rupture dans l'équilibre des forces maintenant la tension superficielle, qui permet au corpuscule étranger de pénétrer par cette brèche à l'intérieur du phagocyte. Nous avons suivi les aspects de l'englobement par les phagocytes du sang des inclusions trophocytaires, élibérées par dissociation dans de la solution de Ringer. Nous avons constaté sur ces préparations que les phagocytes à jeun, ne renfermant pas encore des inclusions étrangères, se distinguent très difficilement, car ils sont très peu réfringents de leur vivant. On ne les aperçoit qu'en diaphragmant fortement. Ce sont des corpuscules globuleux, sans structure apparente; on ne peut distinguer sur le vivant ni leur noyau, ni leurs inclusions cytoplasmiques. Les enclaves trophiques — boules jaunes et concrétions vertes — animées de mouvements browniens, après leur élibération dans le liquide de dissociation, s'entrechoquent entre elles et frappent contre les corpuscules sanguins, qui se déplacent en roulant. La plupart de ces inclusions, atteignant la périphérie des phagocytes, y sont repoussées et reprennent leurs mouvements. Quelques-unes, après avoir cogné plusieurs fois contre la surface phagocytaire, y adhèrent définitivement, accompagnant dorénavant le corpuscule sanguin dans ses déplacements. Après un certain temps, on constate que l'inclusion agglutinée — boule lipo-protéique ou concrétion biliaire — a pénétré dans le cytoplasme phagocytaire, dont la résistance de sa tension superficielle a été abaissée au point de contact. Le corpuscule étranger n'est pas entouré par une vacuole, mais directement par le cytoplasme phagocytaire. La figure 7 de la planche III montre les diverses étapes de la pénétration des inclusions trophiques isolées, dans le cytoplasme phagocytaire.

Pendant la métamorphose n'est détruite qu'une partie du tissu trophique larvaire, celle qui occupe la place destinée aux futurs organes de l'adulte, ou bien les trophocytes à appareil sécrétoire épuisé, qui se trouvent disséminés dans tout l'organisme parmi les éléments indemnes. Cette destruction est réalisée par les phagocytes libres de l'hémolymphe. Les portions détruites ne manifestent aucun signe de lyse cellulaire, déterminant leur incorporation dans le protoplasme phagocytaire. J'avais écrit, dans un mémoire antérieur (1932), que, chez les larves se préparant à la métamorphose, les trophocytes sont « en

dégénérescence ». Je voulais signifier par ce terme, qu'arrivés à ce stade de leur évolution, beaucoup de trophocytes larvaires, ayant leur appareil sécrétoire épuisé dans un cytoplasme complètement bourré par les inclusions produites par leur activité spécifique, sont devenus des éléments incapables de remplir leur rôle dans l'organisme. Ces éléments, à appareil sécrétoire dégénéré, sont détruits par les phagocytes, avant ou après avoir solubilisé leurs réserves, leur localisation dans l'organisme déterminant le moment de leur englobement. Le reste du tissu trophique passe à l'adulte dans toute son intégrité cellulaire. Dépôt pour les réserves, non employées pendant la métamorphose, et pour les concrétions biliaires d'excrétion, le tissu trophique cède à l'organisme de l'adulte les réserves larvaires, isolant les produits toxiques emmagasinés. Lorsque le tissu trophique est englobé dans le protoplasme phagocytaire, celui-ci exécute le même travail de mobilisation des réserves, tout en continuant de soustraire au métabolisme général les produits biliaires.

III. — *SORT DES CORPUSCULES SANGUINS A CONCRÉTIONS BILIVERDINIQUES*

Pendant la période nymphale, le liquide de la cavité générale contient des corpuscules sanguins libres, complètement bourrés de concrétions biliaires vertes. Ils mesurent 13-19 microns de diamètre et sont excessivement nombreux dans le sang de la nymphe, existant aussi dans le sang de l'imago qui vient d'éclore. Ils émigrent dans toute la cavité générale; on les trouve même dans les régions, d'où le tissu adipeux était absent, comme par exemple dans le cœlome céphalique. Ces corpuscules sanguins sont des éléments intoxiqués, ne pouvant plus remplir la fonction phagocytaire. On peut les homologuer aux leucocytes granuleux de Hollande, qui correspondent aussi à d'anciens phagocytes, dont le corps protoplasmique est complètement chargé de granules insolubles, restes d'une activité phagocytaire intensive.

Incapables de phagocytose et renfermant dans leur protoplasme un produit toxique pour l'organisme, ils sont devenus des éléments inutiles. Ils quittent l'organisme durant la période nymphale, par la voie du tube digestif, se frayant un passage parmi les cellules épithéliales de l'intestin moyen.

Les éléments cellulaires à concrétions biliverdiniques, libres dans le liquide cavitaire durant cette période, *ne correspondent pas tous à d'anciens phagocytes, mais aussi à des trophocytes,* qui, après avoir solubilisé leurs réserves, se sont individualisés, se sont détachés du reste de leurs congénères agglomérés en un tissu syncytial et sont devenus mobiles, se dirigeant vers la même voie d'élimination. Comme aspect, ces deux sortes d'éléments, bourrés uniquement par des inclusions biliverdiniques, ne diffèrent pas. Les trophocytes correspondent donc à des éléments apparentés aux corpuscules sanguins qui se sont fixés, pendant un certain temps, pour présider aux échanges nutritifs, effectués entre le sang et les divers tissus, pouvant reprendre leur vie errante dans des circonstances données. Cette propriété, jointe à leur fonctionnement, caractérise *les trophocytes comme l'équivalent, dans l'organisme des insectes, du tissu réticulo-endothélial de Vertébrés.*

La larve, se préparant à la métamorphose, évacue, avant de s'immobiliser, le contenu de son intestin et ne prend plus de nourriture. Pendant toute la période nymphale, elle vit aux dépens de ses réserves, car elle ne commence à se nourrir que lorsque le stade imago est atteint. Durant l'immobilisation de la larve, précédant l'éclosion de la nymphe, on constate que l'intestin moyen est complètement vide, avec ses parois affaissées. La musculature propre, en voie de lyse, permet d'apercevoir nettement les faces basales polygonales des cellules épithéliales. A la surface de l'épithélium on remarque de nombreux corpuscules sanguins à inclusions biliverdiniques, qui commencent à s'insinuer entre les cellules épithéliales. La figure 5 (pl. II) représente l'intestin moyen — dessiné après dissection dans de la solution de Ringer — d'une jeune nymphe, qui vient de quitter son fourreau larvaire. On remarque à la surface de l'intestin de nombreux corpuscules verts *(s. b.)*, les anciens phagocytes biliaires et les trophocytes mobilisés, se préparant à traverser la paroi intestinale.

La figure 11 (pl. IV) est dessinée pendant cette traversée. Elle représente une portion de la paroi intestinale d'une nymphe mobile, dessinée après dissection dans de la solution de Ringer. On aperçoit les anciens phagocytes et les trophocytes mobilisés *(s. b.)*, chargés exclusivement par des inclusions biliverdiniques, engagés parmi les éléments entrant dans la constitution de cette paroi *(p. i.)*. La lumière de l'intestin est remplie par une accumulation de pigments biliaires, élibérés sur place par fonte des corpuscules à concrétions biliaires. Après un certain temps

de séjour dans la cavité intestinale, la biliverdine élibérée souffre des transformations chimiques, se manifestant par son changement de couleur. A droite sont représentés deux phagocytes trophiques libres dans l'hémolymphe, chargés de sphérules lipo-protéiques jaunes et de concrétions biliverdiniques. Ce sont des éléments capables de remplir encore leur rôle phagocytaire, car leur cytoplasme incolore ne renferme que peu d'inclusions insolubles toxiques.

L'intestin moyen, représenté dans la figure 6 (pl. II) a été pris sur un imago, n'ayant pas encore réussi à se débarrasser de l'exuvie nymphale. Il fut dessiné sur le vivant, après dissection, avec le même système optique que celui représenté dans la figure 5. On remarque que ses parois sont distendues par l'accumulation dans sa lumière d'une grande quantité de débris divers imprégnés de pigments biliaires *(m. i.)*. A la surface de la paroi intestinale de nombreux corpuscules sanguins verts *(s. b.)* se préparent à la traverser. On peut se rendre compte, même à l'œil nu, que l'intestin moyen, vide et incolore au début de la métamorphose, est coloré, vers la fin de la période nymphale chez les *Chironomus genuinus,* en vert ou rouge vineux foncé.

Il résulte de ce qui précède que les corpuscules sanguins chargés par des concrétions biliverdiniques, s'accumulent dans la lumière de l'intestin moyen, après s'être frayé un passage parmi la musculature intestinale en voie de lyse et les cellules épithéliales. Corpuscules sanguins biliaires et contenu intestinal donnent avec l'acide nitrique concentré la gamme colorée de Gmélin. Sur les préparations histologiques, les cellules de l'intestin moyen, rapetissées, ont perdu leur structure fonctionnelle caractéristique; leur noyau est le plus souvent à l'état pycnotique, la chromatine, condensée en une masse irrégulière, étant contenue à l'intérieur d'une vacuole. Durant toute la période nymphale, cellules épithéliales et corpuscules sanguins biliaires sont d'une extrême fragilité envers les réactifs histologiques, qui, dans la majorité des cas, déforment leur structure véritable et altèrent leurs rapports réciproques. Même sur les préparations acceptables, les phagocytes biliaires apparaissent le plus souvent comme des éléments à protoplasme faiblement granuleux, uniformément et faiblement colorés en brun clair. Si leur réelle structure n'était pas connue, il serait difficile de reconnaître, dans ces éléments, les corpuscules sanguins biliverdiniques, remplis de concrétions nettement caractérisées sur le vivant. On peut facilement les prendre, sur les préparations histologiques, pour

de petites cellules de remplacement, ou, pendant qu'ils cheminent parmi les cellules épithéliales, pour des éléments étrangers (phagocytés par l'épithélium intestinal), ou bien pour des cellules épithéliales caduques (correspondant à un épithélium nymphal non-fonctionnel), etc., comme probablement ont été interprétés les corpuscules sanguins éliminés par voie intestinale, par les divers auteurs, dans la métamorphose des autres insectes.

La figure 9 (pl. IV) représente une portion de la paroi de l'intestin moyen d'une jeune nymphe, fixée, après dissection dans de la solution de Ringer, par le liquide de Ciaccio et colorée par la méthode de Cowdry. Les cellules épithéliales *(i. l.)* sont plus basses que durant la période larvaire, à cloisons intercellulaires disparues, à noyau pycnotique *(n. i.)*, à bordure en brosse nette *(b. b.)*, dépourvues de leur structure fonctionnelle caractéristique, les formations chondriosomiques *(ch.)* étant représentées par des chaînettes de minuscules granules. Du côté de la cavité générale, on remarque les noyaux *(n. m.)* de quelques éléments allongés en fuseau, vestiges de la musculature intestinale histolysée. Collés contre la paroi intestinale et aplatis parallèlement à sa surface, on trouve des corpuscules sanguins à concrétions biliaires *(s. 1)*. Un de ces éléments *(s. b. 2)* s'est engagé parmi les cellules intestinales. D'autres, ayant déjà traversé cette paroi, se trouvent dans la lumière de l'intestin *(s. b. 3)* et sont en train de se désagréger par lyse. Les préparations, évidenciant le phénomène avec cette netteté, sont rares.

Les cellules épithéliales de l'intestin moyen, quoique très fragiles durant la métamorphose, ne disparaissent pas par lyse. Tout en ayant perdu sa structure fonctionnelle, l'épithélium larvaire se maintient durant la métamorphose, isolant dans un sac à parois continues et imperméables, quoique amincies, les pigments biliaires accumulés dans sa lumière. L'épithélium de l'intestin moyen est remplacé pourtant durant la période nymphale par un autre, qui constituera l'épithélium intestinal de l'adulte. Cet épithélium se différencie aux dépens des éléments constituant un anneau imaginal, disposé aux confins de l'intestin antérieur et de l'intestin moyen. Ces cellules prolifèrent activement et les nouveaux éléments résultés, allongés en fuseau, se disposent en files régulières qui, s'ordonnant en une seule couche, s'insinuent entre l'ancien épithélium et la musculature intestinale, en voie d'édification, de l'imago. Les éléments les plus éloignés du centre de prolifération sont les plus anciens ; ils sont poussés d'avant en

arrière par les éléments de nouvelle formation. L'épithélium résulté entoure progressivement, comme un manchon, l'ancien sac intestinal, rempli de pigments biliaires. Durant cette période, la paroi intestinale est double, l'épithélium imaginal étant du côté de la cavité générale. La figure 6 *(pl. II)* est prise lorsque le nouvel épithélium de l'adulte n'est encore constitué que dans sa portion antérieure. Les pigments biliaires, contenus dans la lumière de l'intestin larvaire, sont séparés des humeurs de l'animal par un feuillet double — l'épithélium larvaire et celui de l'adulte — dans la portion antérieure de l'intestin moyen, et seulement par l'épithélium larvaire dans sa région postérieure.

Parmi les éléments épithéliaux de nouvelle formation, les corpuscules sanguins à biliverdine continuent à se frayer un passage, durant toute la métamorphose. Il est probable que ces corpuscules sont éliminés par la même voie dans l'organisme de l'adulte, mais le processus est masqué par la présence des aliments. Le passage des anciens phagocytes ne gêne en rien l'intégrité protoplasmique et le fonctionnement des cellules épithéliales, car ils cheminent entre les cellules épithéliales, les écartant seulement au moment de leur passage. Cette diapédèse à travers les parois intestinales rappelle le phénomène observé dans l'absorption des aliments gras chez les Vertébrés, lorsque les phagocytes libres du sang parviennent parmi les cellules épithéliales intestinales, pour se charger d'inclusions graisseuses, qu'ils charrient ensuite dans tout l'organisme.

Le procédé, employé par l'organisme des *Chironomus genuinus* pour remplacer l'ancien intestin moyen larvaire par la prolifération des éléments d'un anneau imaginal, situé à son extrémité antérieure, est analogue à celui décrit par Poyarkoff (1910) chez le Coléoptère, la Galéruque de l'orme. Pour cet auteur, lorsque la larve cesse de prendre de la nourriture, les cellules de l'intestin moyen larvaire se rapetissent et sont englobés pour être digérées par les petites cellules de remplacement, qui fonctionnent comme de vrais phagocytes. Ces cellules de remplacement, situées normalement à la base de l'épithélium intestinal, enfoncées comme des coins entre deux cellules voisines, poussent pendant la métamorphose de très fins prolongements entre les cellules larvaires, les englobant de cette manière. Pour nous, il est hors de doute que l'auteur a confondu les cellules de remplacement avec les corpuscules libres du sang, s'éliminant par voie intestinale et s'insinuant, pour traverser ses parois, parmi les éléments entrant dans leur constitution. La méprise est explicable, vu la fragilité

des cellules durant la métamorphose, cause de leur imparfaite conservation par les réactifs histologiques, qui altèrent aussi leurs rapports réciproques. Sans une minutieuse observation sur le vivant, on peut arriver à des interprétations erronées. Les cellules de remplacement phagocytaires sont, suivant l'auteur, à leur tour digérées par d'autres cellules de remplacement, restées inactives pendant que la première poussée de cellules de remplacement accomplissait son travail de destruction de l'épithélium larvaire. « Les cellules de remplacement sont donc englobées successivement les unes par les autres. » Finalement, elles tombent toutes dans la lumière de l'intestin antérieur, où elles périssent par fonte générale. Ces cellules de remplacement ne constitueront donc pas, pour Poyarkoff non plus, le futur épithélium intestinal imaginal, qui s'édifie par la prolifération des cellules postérieures de la valvule œsophagienne; les éléments néo-formés s'ordonnent en un épithélium qui s'insinue entre l'ancien et la musculature de l'intestin. L'auteur décrit aussi une immigration de phagocytes parmi les nouveaux éléments épithéliaux, nés du disque imaginal de l'intestin moyen.

Comme l'auteur constate plus tard que d'autres éléments aussi tombent dans la cavité intestinale, se détachant de ses parois, il admet que les éléments épithéliaux, nés par la prolifération des cellules postérieures de la valvule œsophagienne, se desquament à leur tour, et disparaissent, car ils correspondent à un épithélium nymphal non-fonctionnel. Celui-ci est remplacé par l'épithélium imaginal définitif, dont les cellules, disséminées parmi les éléments de l'intestin nymphal, se sont différenciées aux dépens du même centre de prolifération. L'auteur décrit, dans la région antérieure de l'intestin moyen nymphal, des papilles, caduques aussi, dont les éléments s'exfolient et tombent dans la lumière intestinale. Pour Poyarkoff donc, l'époque nymphale est caractérisée par une desquamation continuelle des éléments épithéliaux de l'intestin moyen. Pour nous, il est évident que Poyarkoff a assisté à une traversée, par poussées successives, des parois de l'intestin moyen par les corpuscules libres du sang usés, venus de la cavité générale, où ils se sont chargés de divers produits toxiques, dont il reste à préciser la nature, mais qui ont été solubilisés par les réactifs histologiques employés. Il décrit cette diapédèse comme une incorporation des cellules épithéliales par les cellules de remplacement, qui se desquament ensuite pour être rejetées dans la lumière intestinale. D'autres éléments étrangers, observés parmi les cellules épithéliales de l'intestin moyen

pendant une assez longue période, s'étendant aussi dans les derniers temps de la vie larvaire, sont interprétés comme cellules de remplacement ayant été phagocytées par les cellules épithéliales.

Chez la Mouche *Calliphora erythrocephala* Meign, Pérez (1910) décrit la rénovation de l'épithélium de l'intestin moyen larvaire comme s'effectuant, durant la métamorphose, par la prolifération intense de petits îlots imaginaux de régénération, disséminés comme de petits boutons à la base des éléments larvaires. Les éléments, issus par division active de ces cryptes de régénération, s'étalent à la surface de la musculature propre de l'intestin en nappes irrégulières qui, confluant, constituent un nouvel épithélium, extérieur à l'ancien. Pérez souligne le fait que les éléments épithéliaux larvaires ne manifestent aucun signe de dégénérescence, au moment de leur délaminement à la suite de l'insinuation des cellules imaginales à leur base, qui les rejette dans la lumière intestinale. La paroi de l'intestin moyen reste continue pendant toute la durée de la métamorphose, le feuillet imaginal enveloppant l'ancien, avant sa destruction. « La cavité intestinale, d'ailleurs vidée de ses aliments avant l'immobilisation de la larve, reste toujours isolée des humeurs propres de l'organisme. » Parmi les éléments, issus de la prolifération des îlots imaginaux, « un grand nombre » n'entre pas dans la constitution de l'épithélium intestinal de l'adulte, mais s'y détachant, immigre entre ceux-ci et les cellules larvaires, constituant une sorte de tissu réticulé, d'aspect conjonctif, qui, dilatant ses mailles, refoule vers la lumière intestinale le manchon épithélial larvaire. Tissu réticulé et épithélium larvaire en voie de destruction constituent le « corps jaune », occupant chez les Mouches la lumière de l'intestin moyen, durant la métamorphose. Ses parois sont distendues pendant cette période par un fluide ambré, épais, mucilagineux, que Pérez interprète comme une sécrétion propre aux nouvelles cellules épithéliales de l'imago, « sécrétion qui ne paraît pas contenir de ferments digestifs, car le corps jaune persiste à peu près inaltéré ». Pendant cette période, l'auteur constate le rejet vers la lumière intestinale d'un certain nombre de cellules épithéliales imaginales. Pérez interprète le tissu réticulé, entourant l'épithélium larvaire rejeté, comme un épithélium nymphal non-fonctionnel, analogue à celui décrit par Deegener (1904) chez *Cybister Rœsselii*. Plus tard (1908), Deegener, chez le lépidoptère *Malacosoma castrense*, ne retrouve plus cet épithélium nymphal non-fonctionnel caduc, rejeté en totalité. Chez les *Fourmis* (1902), Pérez constate que les îlots de régénération ima-

ginaux produisent un épithélium qui ne subira pas de mue véritable, mais donnera directement l'épithélium imaginal, après avoir éliminé « par chute sporadique » un grand nombre de ses éléments. Des éléments épithéliaux caducs ont été décrits aussi par Russ(1908) chez *Anabolia lævis*, où durant la métamorphose, l'épithélium de remplacement unique de l'intestin moyen passe à l'imago, après avoir rejeté dans le lumen ses 1/3-2/8, avec sa basale, musculature et tissu conjonctif. Les auteurs cités interprètent donc les chutes de cellules, se détachant des parois intestinales, comme les vestiges d'une ancienne mue nymphale. Nous nous permettons de considérer ces éléments, tombant dans la lumière intestinale, et le « tissu réticulé » des Mouches, comme correspondant à des corpuscules sanguins éliminés par voie intestinale, après avoir traversé par diapédèse ses parois. Le fluide ambré, occupant chez les Mouches l'intestin moyen durant la métamorphose, provient de la fonte de ces corpuscules sanguins, chargés des produits toxiques de leur activité d'épuration de l'organisme.

Dans le travail de A. Hufnagel (1918), sur la métamorphose du lépidoptère *Hyponomenta padella*, nous trouvons des indications qu'il y a, durant cette période, un passage d'éléments libres de la cavité générale dans la lumière de l'intestin moyen. Elle a aperçu sur ses préparations ces passages plusieurs fois, mais elle les interprète chaque fois d'une autre manière. A la base de l'épithélium larvaire, elle trouve, jusqu'au second jour après la mue nymphale, des éléments à grosses vacuoles, qu'elle interprète comme un épithélium de remplacement chargé par des produits de sécrétion, qui provoquent le délaminement de l'épithélium larvaire. La simple multiplication des éléments de remplacement et leur arrangement en un épithélium s'insinuant à la base de l'ancien, sont suffisants pour expliquer le délaminement de l'épithélium larvaire. S'il faut être prudent durant la métamorphose, dans l'interprétation de ses propres préparations histologiques, la difficulté s'accentue lorsqu'on tente de commenter les préparations des autres sur un objet étranger. Pourtant, nous nous permettons de voir plutôt dans ces cellules vacuolaires, situées à la base de l'épithélium larvaire, des phagocytes, dont les produits accumulés ont été dissous par les réactifs, les éléments au moment de leur différenciation étant toujours à l'état de repos fonctionnel. Dans la lumière du tube digestif, on trouve dorénavant des boules éosinophiles, que l'auteur interprète comme des produits de sécrétion figurés, expulsés par les cellules épithéliales

imaginales; elles sont pour nous des corpuscules sanguins en voie de lyse, après avoir traversé les parois de l'intestin moyen.

Chez les nymphes de six à sept jours, Hufnagel trouve de nombreux éléments migrateurs entre l'épithélium et la musculature intestinale ; l'auteur mentionne seulement leur existence, sans se préoccuper ni de leur provenance, ni de leur sort ultérieur. Vers la même époque, l'auteur décrit une « épuration » des cellules intestinales de remplacement qui correspondrait à un remaniement sur place des cellules nymphales, pour se transformer, à la suite du rejet d'une partie de leur substance, en cellules imaginales. L'épithélium intestinal présente, du côté de la cavité générale, de nombreuses boursouflures, occupées par une partie du cytoplasme de la cellule intestinale, qui contient un ou quelques amas irréguliers chromatiques (se colorant intensément). Ces boursouflures, se détachant ensuite de la cellule intestinale, tombent dans la cavité générale où elles sont phagocytées par les leucocytes, qui abondent à ce stade dans le voisinage de l'intestin (l'auteur). Les cellules de remplacement s'épurent ainsi d'une partie de leur substance, « épuration » qui leur permettrait de continuer leur existence pendant la période imaginale. On ne peut comprendre pourquoi des éléments, nouvellement formés, aient besoin de « s'épurer ». On ne voit pas sous quelle forme des produits, accumulés par des aïeux dans une vie nymphale ancestrale, puissent se transmettre à des éléments, restés à l'état embryonnaire, en de pareilles quantités pour nécessiter une épuration qui rejette une partie égale à celle conservée (voir fig. 60 du mémoire cité). Nous sommes d'avis que Hufnagel a saisi, sur ses préparations, les corpuscules sanguins libres, chargés par des produits toxiques, au moment où ils s'engagaient entre les éléments épithéliaux de l'intestin moyen, pour passer de la cavité générale dans la lumière intestinale. D'ailleurs elle décrit des interstices temporaires entre les cellules de l'intestin moyen (qu'elle trouve aussi chez l'imago), indices du passage récent de ces éléments migrateurs.

Le passage des éléments sanguins libres, au niveau des cellules épithéliales de l'intestin moyen, a été observé par les anciens auteurs aussi. Ils les décrivent pourtant comme des éléments, immigrés de la cavité générale, qui se sont arrêtés sous les cellules larvaires de l'intestin moyen, pour constituer, par leur prolifération, le futur épithélium imaginal : Korotneff (1885), Anglas (1898-1900), Berlese sous le nom de splanchnocytes (1899-1901), Docters van Leeuven (1908). Anglas (1904) décrit,

chez les Vespidés, une immigration précoce de « cellules trachéennes » parmi les cellules épithéliales larvaires, qui constitueront par leur multiplication l'épithélium rénové de l'intestin moyen. En réalité, il y a, probablement durant toute la vie de l'individu, un passage continuel d'éléments migrateurs à travers les parois de l'intestin moyen, qui viennent de la cavité générale et tombent dans la lumière digestive. Ces éléments, loin d'être des éléments de rénovation épithéliale, sont des cellules usées, s'éliminant à l'extérieur par cette voie. L'épithélium de l'intestin moyen larvaire est remplacé par la prolifération active d'éléments épithéliaux, restés à l'état embryonnaire, et distribués soit comme des îlots isolés parmi leurs cellules sœurs (Rengel, 1896; Karawaiew, 1898; Pérez, 1902-11; Deegener, 1900-07; Russ, 1908; Braun, 1912), soit agglomérés en un anneau imaginal antérieur (Poyarkoff, 1910, et moi-même). La présence, dans la lumière intestinale, de substances naturellement colorées durant la métamorphose, fut décrite par van Linden (1904) chez les Lépidoptères *Vanessa urticæ* et *Melitæa cinxia*. L'intestin moyen des pupes contient un pigment rouge (« corps rouge » des auteurs) qui proviendrait, suivant Linden, de la transformation, sous l'influence des sucs digestifs, de la chlorophille, non évacuée avant l'immobilisation de la chenille. Hollande (1922) critique cette interprétation, soutenant que les chenilles, au moment de leur immobilisation, ont l'intestin moyen complètement vide. Pour Hollande, le pigment rouge carmin, inclus dans la lumière intestinale des pupes de *Melitæa cinxia*, provient du pigment granulaire brun, contenu dans les cellules hypodermiques. Celui-ci, au début de la métamorphose, rougit, se solubilise, passe dans le sang, d'où il est absorbé par les cellules de l'intestin moyen larvaire et imaginal et rejeté dans la lumière intestinale, où il constitue avec les cellules épithéliales desquamées le « corps rouge ». Vers la fin de la métamorphose, le pigment rouge intestinal, après avoir été modifié par les sucs digestifs de la pupe, est réabsorbé, suivant Hollande, par les cellules intestinales imaginales; il repasse dans le sang, d'où il est repris par les cellules péricardiales qui, après l'avoir transformé, l'élibèrent dans le sang, d'où il est absorbé par les cellules excrétrices des tubes de Malpighi, qui l'éliminent dans le rectum, d'où il sera évacué avec les urates, après l'éclosion du papillon. Il nous semble curieux qu'un produit, probablement nocif, dont l'organisme s'est débarrassé en l'évacuant dans la lumière de l'intestin moyen, pénètre à nouveau dans la circulation générale, pour être encore une fois

éliminé par une autre voie, tellement détournée (sang, cellules péricardiales, cellules malpighiennes), dans la cavité d'un autre tronçon du tube digestif, quand il serait tellement plus simple d'y arriver par simple progression vers l'orifice anal. D'ailleurs la masse du « corps rouge » persiste dans la lumière de l'intestin durant toute la métamorphose, étant éliminée par l'adulte avec le méconium d'urates. Dans la constitution de ce « corps rouge », LINDEN décrit de nombreuses cellules à pigment vert, qu'elle interprète comme aliments végétaux à chlorophylle — restés du temps que la larve prenait de la nourriture — qui, durant la métamorphose, se transformeraient sous l'action des sucs digestifs en pigment rouge. Nous voyons, dans la présence de ces éléments à pigment vert dans la lumière intestinale durant la métamorphose, la preuve du passage des éléments migrateurs chargés de produits d'excrétion colorés, à travers les parois de l'intestin moyen, qui sont éliminés par cette voie de l'organisme. Comme le pigment rouge de *Vanessa urticæ* et de *Melitæa cinxia* devient vert bleu par l'acide azotique (VAN LINDEN), il serait possible, qu'ici aussi il y aurait élimination par voie intestinale de pigments biliaires, accumulés durant la vie larvaire par l'organisme, comme derniers produits toxiques du noyau tétrapyrrolique chlorophyllien.

Nous avons réussi à mettre en évidence chez les nymphes de *Chironomus genuinus* un procédé analogue, d'élimination du noyau tétrapyrrolique, à celui employé par l'organisme des Vertébrés. Ce noyau est capté du liquide circulant par un tissu spécial, le tissu trophique, homologue du tissu réticulo-endothélial qui le fixe sous la forme de granulations insolubles dans son protoplasme. Une partie des cordons et nappes trophiques étant détruites par phagocytose durant la métamorphose, pour céder la place aux organes imaginaux en voie d'édification histologique, les concrétions biliaires s'accumulent dans le protoplasme des éléments phagocytaires. Ceux-là quittent l'organisme, en traversant les parois de l'intestin moyen. Par la même voie sont éliminés certains trophocytes, devenus mobiles. On constate que les produits biliaires, déposés dans les trophocytes, sont définitivement soustraits au métabolisme général. Durant l'histolyse intense des autres tissus pendant la métamorphose, le tissu trophique garde son intégrité protoplasmique, pour être détruit uniquement par les phagocytes, ou quittant l'organisme par mobilisation de certains de ses éléments. Les pigments biliaires constituant un ballast toxique, leur présence est fatale aux éléments

les ayant phagocytés, qui quittent l'organisme en pénétrant dans la cavité intestinale. On retrouve chez les larves de *Chironomus genuinus*, comme chez les Vertébrés, le même tableau général résumant l'élimination des noyaux pyrroliques, élibérés pendant la destruction de la molécule hémoglobinique. Transformation de ces fragments en pigments biliaires par l'activité d'un tissu spécial (*tissu réticulo-endothélial* des Vertébrés, *tissu trophique* des Insectes); rejet des pigments biliaires dans la lumière de l'intestin moyen. Cette élimination est effectuée chez les Vertébrés par les cellules du foie, qui arrêtent les pigments biliaires dissous en excès dans le sang où ils sont graduellement élibérés par les cellules réticulo-endothéliales les ayant emmagasinés; chez les Insectes par des phagocytes qui, se chargeant des concrétions biliaires insolubles, les charrient à travers les parois intestinales, ou bien par les trophocytes eux-mêmes, qui se mobilisent pour évacuer le produit toxique emmagasiné lors de leur activité d'épuration humorale.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

1° Les cordons et nappes trophocytaires des *Chironomus genuinus*, renfermant des réserves lipo-protéiques et des excreta biliaires, sont détruits durant la métamorphose, sur les emplacements où vont s'édifier les futurs organes de l'adulte. Sont détruits aussi les trophocytes, dont le protoplasme ne peut plus remplir son activité spécifique.

2° Le tissu trophocytaire est détruit par l'activité des phagocytes, corpuscules sanguins du type des micronucléocytes de *Paillot*.

3° Ces phagocytes, après avoir vaincu la tension superficielle du tissu trophocytaire, s'emparent des inclusions figurées de son métabolisme spécifique.

4° Avec une taille accrue de toute la masse des produits incorporés, le phagocyte reprend généralement son individualité.

5° Les réserves lipo-protéiques sont solubilisées, fondant et disparaissant sans laisser de traces, de la même manière qu'elles sont dissoutes dans le protoplasme originaire, lorsqu'un appel de réserves se fait sentir dans l'organisme.

6° Les concrétions biliaires, définitivement insolubles, per-

sistent dans le protoplasme phagocytaire, le chargeant d'un ballast toxique, dont il ne pourra plus se débarrasser.

7° Lorsque le phagocyte est complètement bourré par ces inclusions de nature excrétrice, il devient incapable de continuer son activité de déblaiement rapide.

8° Il quitte l'organisme par la voie du tube digestif, en traversant par diapédèse les parois de l'intestin moyen.

9° Par la même voie sont éliminés certains trophocytes, devenus mobiles après avoir consommé leurs réserves.

10° L'épithélium larvaire de l'intestin moyen, en état de repos fonctionnel, garde son intégrité protoplasmique jusqu'à son enveloppement complet par le feuillet épithélial de l'adulte.

11° Celui-ci s'édifie par la prolifération d'un anneau imaginal, situé à son extrémité antérieure.

12° Les cellules épithéliales isolent des humeurs de l'animal les pigments biliaires, contenus dans la lumière de l'intestin moyen, où ils furent élibérés lors de la destruction des corpuscules sanguins immigrés.

EXPLICATION DES PLANCHES

Planche I.

Fig. 1. — *Phagocytose d'une nappe trophocytaire sous-hypodermique chez une larve qui vient de s'immobiliser, dessinée après dissociation dans de la solution de Ringer* (× 1900). — La nappe trophocytaire *(n. t.)* est invadée par 5 phagocytes *(ph.)*. On constate que les inclusions spécifiques trophocytaires, sphérules lipo-protéiques *(l.)* et granules biliaires *(b.)* sont incorporées dans le protoplasme phagocytaire. L'élément *(A)* vient de commencer cet englobement, les éléments *(B)* le terminent. Les pseudo-podes filiformes *(p. f.)*, présentés par les éléments *(B)*, ne prennent pas part à cet englobement.

Fig. 2. — *Deux phagocytes libres d'une larve se préparant à la métamorphose, dessinés après dissociation dans de la solution de Ringer* (× 1900). — Les phagocytes, mobiles sur le vivant, contiennent des sphérules lipo-protéiques jaunes *(l.)* et des concrétions biliverdiniques *(b.)*. La taille de ses concrétions biliaires nous indique que ses inclusions proviennent des nappes trophocytaires superficielles.

Fig. 3. — *Des phagocytes des cordons trophiques profonds, dessinés après dissociation dans de la solution de Ringer* (× 1900). — Les inclusions phagocytées, concrétions biliaires *(b.)* et boules graisseuses *(l.)* sont plus grosses que celles des phagocytes représentés dans la figure 2.

Fig. 4. — *Corpuscules sanguins, bourrés par des concrétions biliaires, dessinés après dissociation dans de la solution de Ringer, chez une nymphe* (× 1900). — Ces corpuscules, libres dans le sang, excessivement nombreux durant la métamorphose, ne manifestent plus de propriétés phagocytaires.

Planche II.

Fig. 5. — *Intestin moyen d'une nymphe à peine sortie de son fourreau larvaire, dessiné après dissection dans de la solution de Ringer* (× 220). — La musculature intestinale, en cours de l'histolyse, permet d'apercevoir nettement les bases polygonales des cellules épithéliales *(e.)*. Celles-ci constituent un feuillet continu. Parmi les cellules épithéliales, on remarque des corpuscules sanguins à concrétions biliverdiniques *(s. b.)*, s'apprêtant à traverser par diapédèse les parois de l'intestin moyen, dont la lumière est vidée d'aliments.

Fig. 6. — *Intestin moyen d'une nymphe, sous le tégument de laquelle on aperçoit l'adulte constitué, dessiné après dissection dans de la solution de Ringer* (× 220). — On constate qu'il renferme une masse abondante *(m. i.)*, colorée en vert par les pigments biliaires. Des corpuscules sanguins à concrétions biliverdiniques *(s. b.)* sont en train de s'engager parmi les éléments constituant les parois intestinales. Antérieurement *(A)* le feuillet intestinal est double, — constitué par le feuillet

épithélial larvaire *(i. l.)* et par le feuillet épithélial imaginal *(i. i.)* ; il est unique dans sa région postérieure *(P)*, où il est réduit seulement au feuillet épithélial larvaire *(i. l.)*.

Planche III.

Fig. 7. — *Phagocytose des boules lipo-protéiques jaunes et des concrétions biliverdiniques, élibérées dans de la solution de Ringer par dissociation du tissu trophocytaire* (× 1100). — Les inclusions trophocytaires *(l.* et *b.)* sont animées de mouvements browniens, d'autant plus vifs que le corpuscule est plus petit. En frappant contre les phagocytes *(ph.)*, quelques-unes y adhèrent, en restant collées à sa surface *(ph. 1)*, et le suivent dans tous ses déplacements. Après un certain temps on constate que les inclusions, ayant réussi à vaincre la résistance de la tension superficielle, ont pénétré à l'intérieur du protoplasme phagocytaire *(ph.)*. Les phagocytes de leur vivant, sont très peu réfringents ; on ne peut leur distinguer ni noyaux, ni structure protoplasmique propre.

Fig. 8. — *Deux corpuscules sanguins à inclusions biliverdiniques, dessinés sur le vivant dans de la solution de Ringer* (× 1900). — Leur protoplasme est complètement bourré par des concrétions biliaires *(b.)* ; il n'y a que le noyau *(n.)* qui en est exempt.

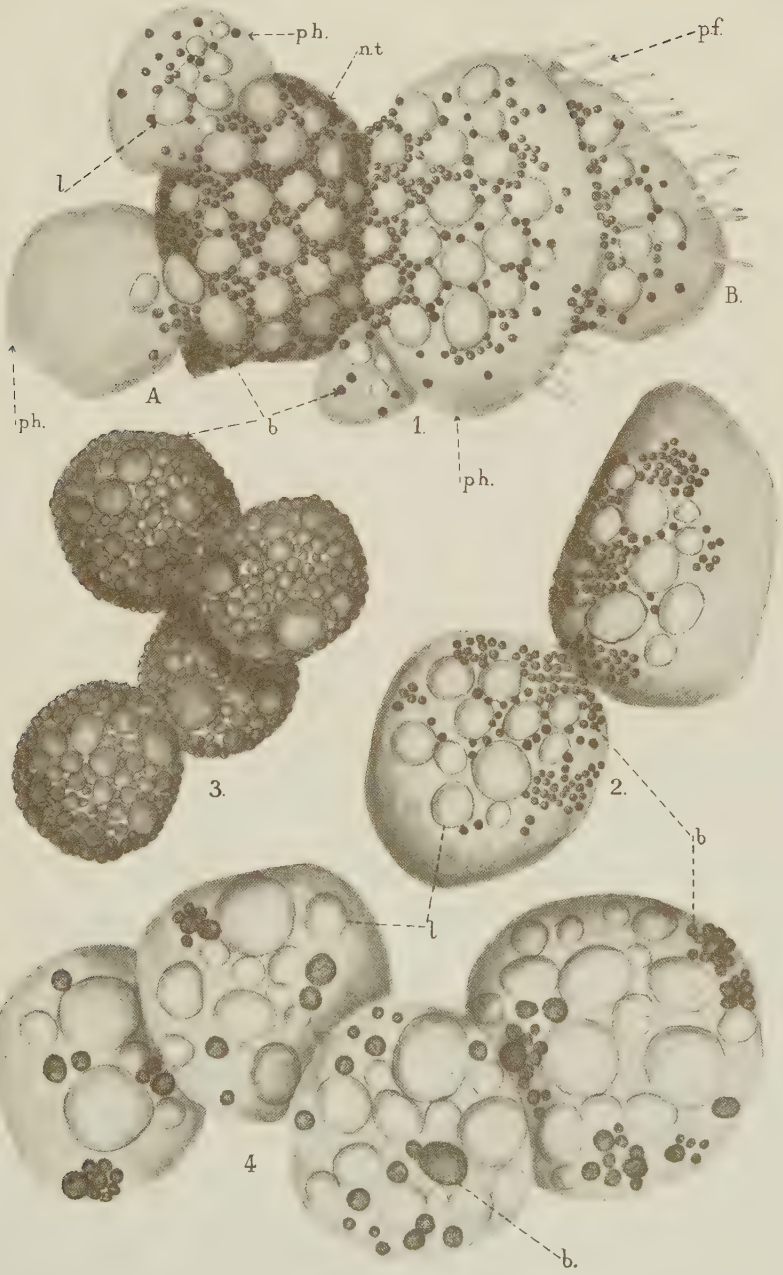
Planche IV.

Fig. 9. — *Coupe de l'intestin moyen d'une nymphe, fixé par le liquide de Ciaccio et coloré par la méthode de Cowdry* (× 1900). — L'épithélium intestinal larvaire *(i. l.)* est continu, à chondriome dégénéré *(ch.)* représenté par des chaînettes granulées, à noyaux pycnotiques *(n. i.)*, à bordure en brosse *(b. b.)* nette. 3 corpuscules sanguins à biliverdine *(s. b. 1)* y sont accolés du côté de la cavité générale. Un autre *(s. b. 2)* est en train de traverser la paroi intestinale, en s'insinuant parmi les éléments épithéliaux. La musculature intestinale est en voie de lyse ; on aperçoit encore ses noyaux *(n. m.)*. De nombreux corpuscules sanguins à concrétions biliaires *(s. b. 3)* sont contenus dans la lumière intestinale, à côté d'autres qui ont été détruits par lyse et dont on aperçoit encore les noyaux *(n. b.)*.

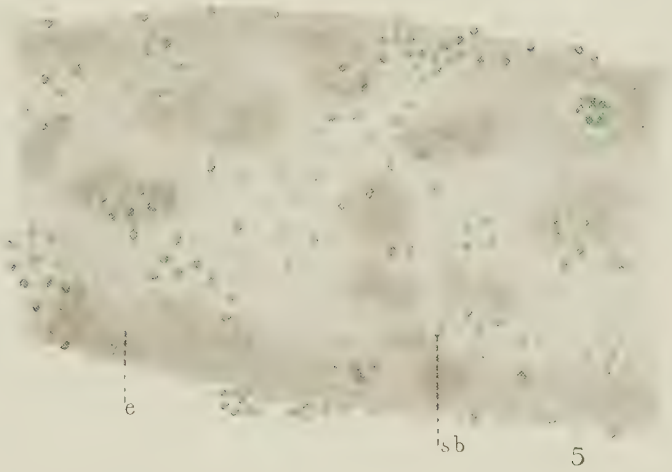
Fig. 10. — *Coupe d'une nappe de tissu trophocytaire sous-hypodermique d'une larve âgée, fixée par le liquide de Ciaccio et colorée par la méthode de Cowdry* (× 1900). — La cuticule larvaire *(c.)*, décollée, n'adhère plus à l'hypoderme *(h.)*. Celui-ci, hypertrophié, contient un riche chondriome *(ch.)*. Les trophocytes *(t.)* sont bourrés par des concrétions biliaires *(b.)* et renferment relativement peu de sphérules lipo-protéiques *(l.)*.

Fig. 11. — *Intestin moyen d'une nymphe, dessiné après dissection dans de la solution de Ringer* (× 660). — La paroi intestinale *(i. l.)* est traversée par des corpuscules sanguins à biliverdine *(s. b.)*, venus de la cavité générale. Le lumen est occupé par des débris cellulaires, imprégnés de pigments biliaires *(m. i.)*, élibérés à la suite de la fonte intra-intestinale des anciens phagocytes. Les corpuscules sanguins *(ph.)* représentent des phagocytes trophiques en activité, car ils contiennent, dans un cytoplasme incolore abondant, des réserves lipo-protéiques *(l.)* et des concrétions biliverdiniques *(b.)* peu nombreuses.

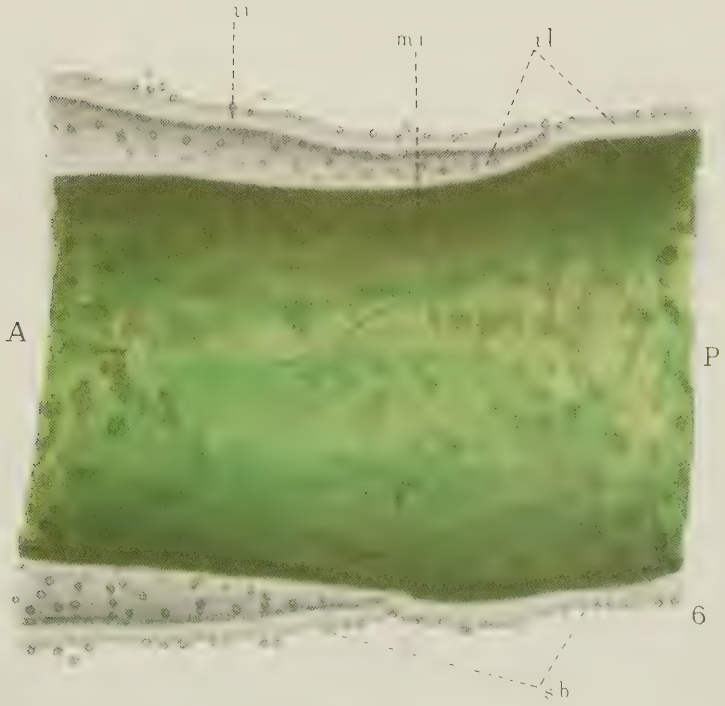
PLANCHE I
(Victoria G. Iuga)



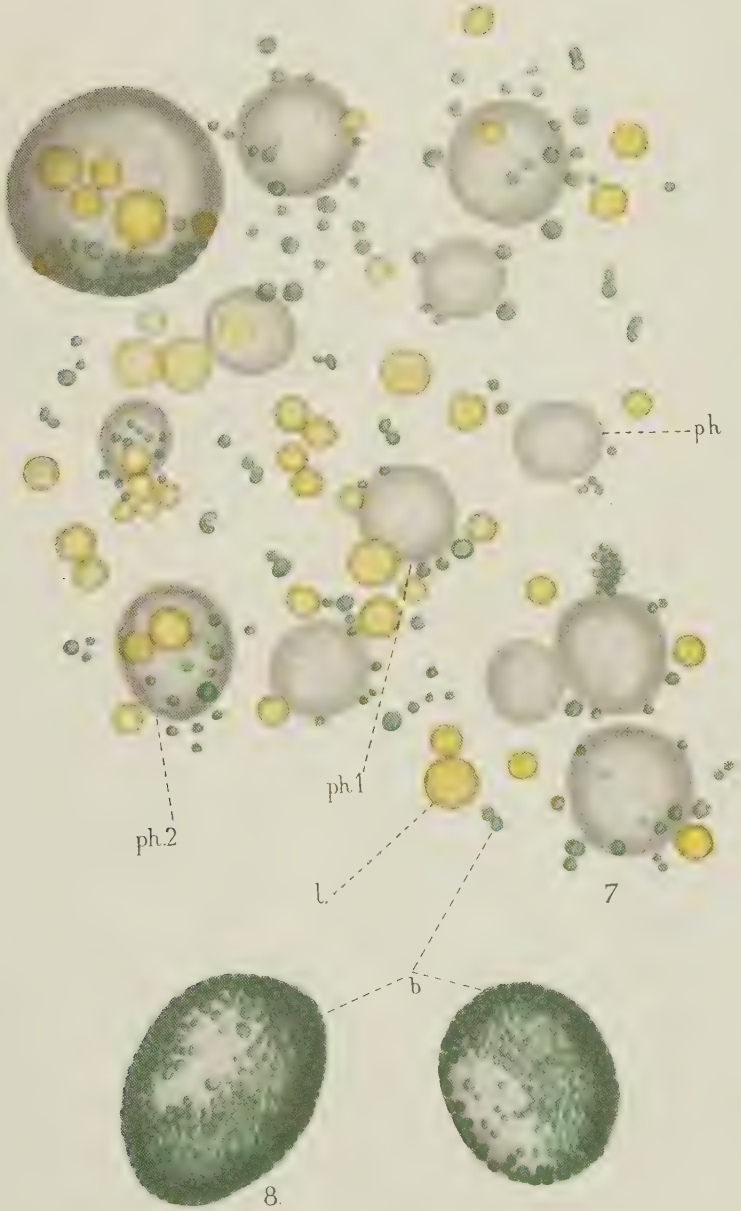
MASSON ET C^ie^, ÉDITEURS

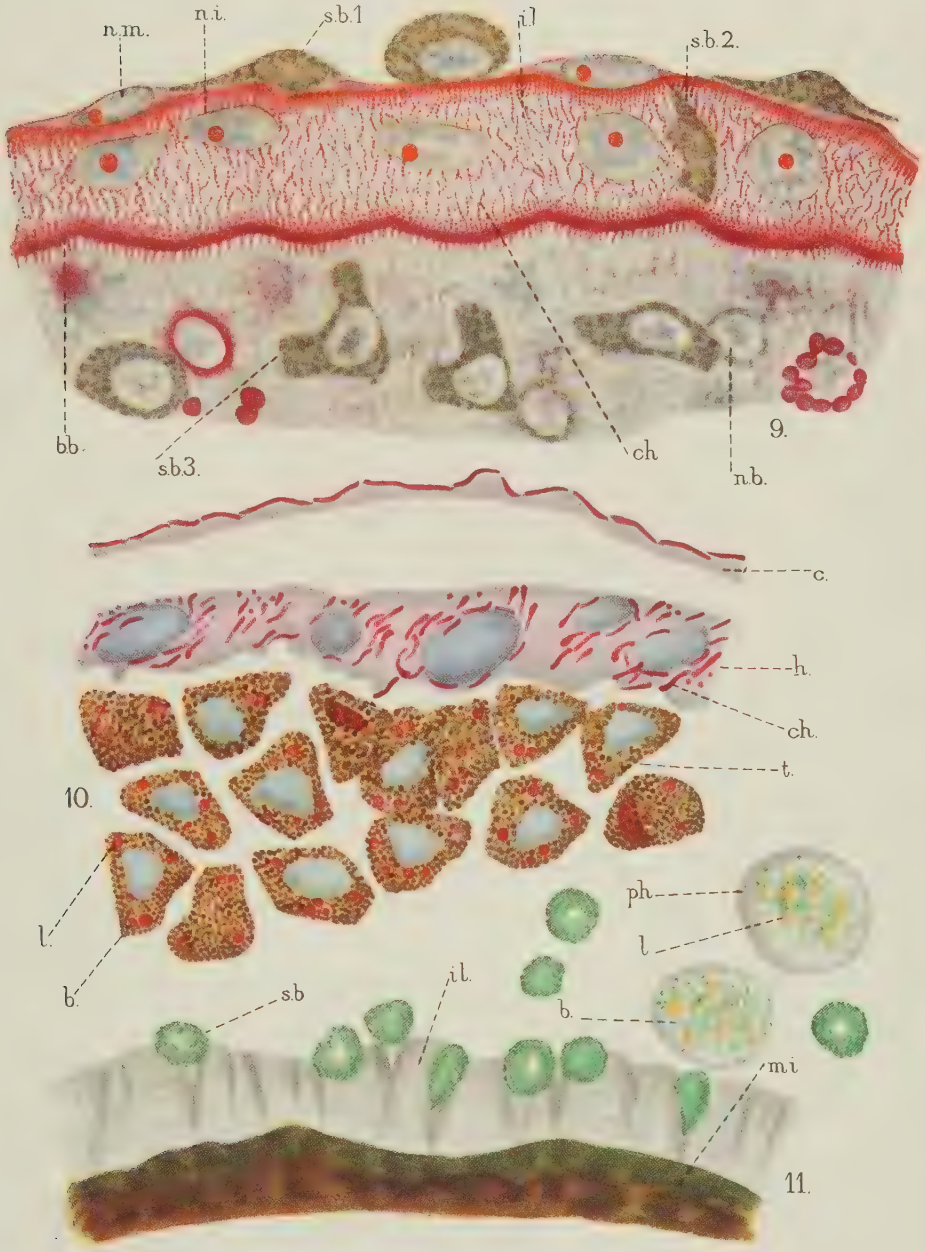


5



6


ph
ph.1
ph.2
l.
7
b
8.


n.m.
n.i.
s.b.1
i.l
s.b.2.
bb.
s.b.3.
ch
n.b.
9.
c.
h.
ch.
t.
10.
l.
b.
ph
l
s.b
i.l.
b.
m.i
11.

BIBLIOGRAPHIE

ABELOOS (M.) : « Recherches histologiques et histiophysiologiques sur le parenchyme et les néphridies des Hirudinées Rhynchobdelles. » (*Bull. Biol. fr.-belge*, t. LIX, 1925.)

ANGLAS (J.) : « Sur l'histolyse et l'histogénèse du tube digestif des Hyménoptères pendant la métamorphose. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1898.)

ID. : « Sur la signification des termes phagocytose et lyocytose. » (*Ibid.*, 1900.)

ID. : « Observations sur les métamorphoses internes de la Guêpe et de l'Abeille. » (*Bull. Sc. France et Belgique*, t. XXXIV, 1900.)

ID. : « Nouvelles observations sur les métamorphoses internes. » (*Arch. d'Anat. micr.*, t. V, 1902.)

ID. : « Du rôle des trachées dans la métamorphose des Insectes. » (*C. R. Soc. Biol.*, t. LVI, 1904.)

ID. : « Rapports du développement de l'appareil trachéen et des métamorphoses. » (*C. R. Acad. de Paris*, t. CXXXVIII, 1904.)

ASCHOFF : « Das reticulo-endotheliale System und seine Beziehungen zur Gallenfarbstoffbildung. » (*Muenchener med. Wochenschr.*, Bd. LXIX, 1922.)

ASVADOUROVA (N.) : « Recherches sur la formation de quelques cellules pigmentaires et des pigments. » (*Arch. Anat. micr.*, t. XV, 1913.)

BERLESE (A.) : « Osservazioni sopra fenomeni che avvengono durante la ninfosi degli Insetti metabolici. » (*Riv. di Pat. végét.*, an. VIII, IX, X, 1899-1901.)

ID. : « Interno alle modificazioni de alcuni tissute durante la ninfosi della *Calliphora erythrocephala*. » (*Boll. del. Soc. Entomol. ital.*, an. XXXII, 1901.)

ID. : « Vorgaenge welche waehrend d. Nymphosis d. metabolischen Insekten vorkommen. (*Zool. Anz.*, Bd. XXIV, 1901.)

ID. : « Sulle concrezioni cristalline contenute indissoluzione e sostanze albuminoidi in via di digestione nelle ninfe degli insetti metabolici. » (*Anat. Anzeiger*, Bd. XXI, 1902.)

ID. : *Gli Insetti*, 1909.

BOISSEZON (P. DE) : « Contribution à l'étude de la biologie et l'histophysiologie de *Culex pipiens* L. » (*Arch. Zool. expér. et gén.*, t. 70, 1930.)

BRAUN (M.) : « Das Mitteldarmephitel der Insektenlarven waehrend der Haeutung. » (*Zeitsch. f. Wiss. Zoologie.*, Bd. CIII, Heft I, 1912.)

CUÉNOT : « Etudes sur le sang, son rôle et sa formation dans la série animale. I^re^ part. : Invertébrés. » (*Arch. Zool. expér. et gén.*, t. V, 1887.)

ID. : « Etudes sur le sang et les glandes lymphatiques dans la série animale. II^e^ part. : Invertébrés. » (*Ibid.*, t. IX, 1891.)

ID. : « L'excrétion. » (ROGER : *Traité de Physiologie normale et pathologique*, t. III. Paris, Masson, 1928.)

DEEGENER (P.) : « Die Entwicklung des Darmkanals der Insekten waehrend der Metamorphose. Teil I. *Cybister rœselli Curtis.* » (*Zool. Jahrb. Anat.*, Bd. 20, 1904.)

ID. : « Die Entwicklung des Darmkanals der Insekten waehrend der Metamorphose. Teil II. *Malacosoma castrense* L. » (*Ibid.*, Bd. 26, 1908.)

ID. : « Zur Beurteilung der Insektenpuppe. » (*Zool. Anz.*, Bd. XXXVII, 1911.)

DOCTERS VAN LEEUWEN (W.) : « Beiträge zur Kentniss der Metamorphosen. Die microscopische Anatomie des Darmkanals und dessen Druesen von *Isosoma geaminicola* Giraud. » (*Tydschrift der Ned. Dierk. Vereen.*, 2^e^ série, t. XI, 1908 ; d'après CH. PÉREZ, 1910.)

Enriquez (P.) : « Sulla ninfosi nelle Mosche. » (*Anat. Anzeiger,* Bd. XX, 1901.)
Id. : « Sulla ninfosi nelle Mosche. » (*Ibid.,* Bd. XX, 1902.)
Frenzel (J.) : « Einiges ueber den Mitteldarm der Insekten, sowie ueber Epithelregeneration. » (*Arch. f. mikr. Anat.,* Bd. XXVI, 1886.)
Hollande (A.-Ch.) : « Etude histologique comparée du sang des Insectes à hémorrhée et des Insectes sans hémorrhée. » (*Arch. Zool. expér. et gén.,* 5e sér., t. VI, 1911.)
Id. : « Différenciation chromatique des éléments de la cellule par l'emploi de quatre colorants électifs. » (*Ibid.,* t. X, not. et rév., 1912.)
Id. : « Formations endogènes des cristalloïdes albuminoïdes et des urates des cellules adipeuses des Chenilles de *Vanessa io* et *Vanessa urticæ.* » (*Ibid.,* t. LIII, 1914.)
Id. : « La cellule péricardiale des Insectes. » (*Arch. Anat. microsc.,* t. XVIII, 1923.)
Hufnagel (A.) : « Recherches histologiques sur la métamorphose d'un Lépidoptère *(Hyponomeuta padella).* » (*Arch. Zool. expér. et gén.,* t. LVII, 1918.)
Iuga-Voinov (V.) : « La pigmentogénèse chez les larves de *Simulium.* » (*C. R. Soc. Biol.,* 1925.)
Id. : « Sur l'existence d'un tissu mésenchymateux vacuolaire chez les larves de *Chironomus.* » (*Ibid.,* 1927.)
Id. : « La pigmentogénèse chez les larves de *Simulium* ». (*Arch. Zool. expér. et gén.,* 1928.)
Id. : « Excreția prin intermediul cromatocitelor la Nevertebrate. — L'excrétion par l'intermédiaire des chromatocytes chez les Invertébrés. » (*Thèse* pour le doctorat ès sciences, Université de Bucarest, 1929.)
Id. : « Les pigments de la *Glossosiphonia paludosa.* » (*Arch. Zool. expér. et gén.,* t. LXXI, 1931.)
Id. : « Les mécanismes sécrétoires dans les trophocytes des larves des *Chironomides* à hémoglobine. » (*Arch. roum. Path. expér. et Microbiol.,* t. 1932.)
Karawaiew (W.) : « Die nachembryonale Entwicklung von *Lasius flavus.* » (*Zeitschr. f. w. Zool.,* Bd. XLIV, 1898.)
Id. : « Ueber Anatomie und Metamorphose des Darmkanals der Larve von *Anobium paniceum.* » (*Biol. Centralblatt,* Bd. IX, 1899.)
Kowalevsky (Alex.) : « Beiträge zur nachembryonalen Entwicklung der Musciden. » (*Zool. Anzeiger,* Bd. VIII, 1885.)
Id. : « Beiträge zur Kenntniss der nachembryonalen Entwicklung der Musciden. » (*Zeit. f. w. Zool.,* Bd. 45, 1887.)
Korotneff (A.) : « Zur Entwicklung des Mitteldarm bei den Arthropoden. » (*Biol. Centralbl.,* Bd. XIV, 1894.)
Linden (M. v.) : « Recherches morphologiques, physiologiques et chimiques sur la matière colorante des Vanesses. » (*An. Sc. nat.,* sér. 8, t. XX, 1904.)
Mercier (M.-L.) : « Les processus phagocytaires pendant la métamorphose des Batraciens Anoures et des Insectes. » (*Thèse* de Nancy et *Arch. Zool. expér. et gén.,* t. V, 1906.)
Metalnikoff (S.) : « Zur Verwandlung der Insekten. » (*Biol. Centralblatt,* Bd. XXVII, 1907.)
Id. : « Recherches expérimentales sur les chenilles de *Galleria melonella.* » (*Arch. Zool. exp. et gén.,* vol. VIII, 1908.)
Metchnikoff (E.) : « Untersuchungen über die intracellulare Verdaung bei wirbellosen Thieren. » (*Arbeiten Zool. Inst.,* Vienne, Bd. I, 1883.)
Millot (J.) : « Le pigment purique chez les Vertébrés inférieurs. » (*Bull. Biol. France-Belgique,* t. LVII, 1923.)
Id. : « Contribution à l'histophysiologie des Aranéides. » (*Ibid.,* suppl. VIII, 1926.)
Noël (R.) et Paillot (A.) : « Sur le chondriome des cellules péricardiales du

Bombyx du mûrier et de *Pieris brassicæ*. » (*C. R. Soc. Biol.*, t. XCV, 1926.)

Paillot (A.) et Noël (R.) : « Recherches histophysiologiques sur le tissu adipeux des larves d'Insectes. » (*Bull. Histol. appl.*, t. V, 1928.)

Paillot (A.) : *L'infection chez les Insectes*. G. Patissier, 1933.

Pérez (Ch.) : « Contribution à l'étude des métamorphoses. » (*Thèse* Fac. Sc. de Paris et *Bull. Sc. de la France et de la Belgique*, t. XXXVII, 1902.)

Id. : « Recherches histologiques sur la métamorphose des Muscidés (*Calliphora erythrocephala* Mg.). » (*Arch. de Zool. expér. et gén.*, t. IV, 1910.)

Id. : « Observations sur l'histolyse et l'histogénèse dans la métamorphose des Vespidés (*Polistes gallica* L.). » (*Mém. Acad. Roy. Belgique*, t. III, 1911.)

Id. : « Sur les inclusions des cellules grasses des Insectes pendant la métamorphose. » (*Arch. Zool. expér. et gén.*, LIX, not. et rév., 1920.)

Poyarkoff (E.) : « Recherches histologiques sur la métamorphose d'un Coléoptère (la Galéruque de l'orme). » (*Arch. d'Anat. micr.*, vol. XII, 1910.)

Rees (J. van) : « Beiträge zur Kenntniss der inneren Metamorphose von Musca vomitoria. » (*Zool. Jahrb. Anat.*, Bd. 3, 1888.)

Rengel (C.) : « Ueber die Veränderungen des Darmepithels bei Tenebrio molitor während der Metamorphose. » (*Zeitschr. für w. Zool.*, Bd. LXII, 1896.)

Id. : « Ueber die periodische Abstossung und Neubildung des gesammten Mitteldarmepithels bei *Hydrophilus*, *Hydrous* und *Hydrobius*. (*Ibid.*, Bd. LXIII, 1898.)

Russ (E.-A.-L.) : « Die postembryonale Entwicklung des Darmkanals bei den Trichopteren (*Anabolia lævis* Zett). » (*Zool. Jahrb. Anat.*, Bd. XXV, 1908.)

Scheer (D.) : « Die Farbstoffe der Chironomiden. » (*Arch. f. Hydrobiol.*, Bd. XXVII, 1934.)

Timon David (J.) : « Sur l'élaboration synthétique des corps gras chez les larves xylophages. » (*C. R. Soc. Biol.*, Paris, vol. 97, 1927.)

Id. : « Sur les variations des graisses de réserves pendant l'évolution de la Pyrale du maïs (*Pyrausta nubilalis* Hübn). » (*C. R. Soc. Biol.*, Paris, vol. 99, 1928.)

Id. : « Contribution à la connaissance des graisses d'insectes : le beurre des Pucerons du Térébinthe. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, vol. 186, 1928.)

Id. : « Contribution à l'étude de la constitution chimique des corps gras chez les Insectes. » (*Bull. Soc. Ch. biol.*, Paris, vol. 10, 1928.)

Id. : « Action du brome sur les huiles d'insectes. » (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, vol. 188, 1929.)

Weismann (A.) : « Die nachembryonale Entwicklung der Musciden. » (*Zeit. f. w. Zool.*, Bd. 14, 1864.)

LE SÉRO-DIAGNOSTIC DE LA FIÈVRE TYPHOÏDE A LA LUMIÈRE DES NOUVELLES CONNAISSANCES SUR LA STRUCTURE ANTIGÉNIQUE DES GERMES (1)

par

E. ALEXA et E. MANOLIU

(Travail du Laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital « Izolarea » et du Laboratoire d'Hygiène de la Faculté de Médecine de Jassy)

La Conférence d'hygiène rurale, organisée en 1931 par l'Organisation d'Hygiène de la Société des Nations, a confié aux écoles d'hygiène et aux instituts d'hygiène des différents pays un nombre de problèmes dont celui de la fièvre typhoïde en milieu rural.

Une conférence bactériologique sur la fièvre typhoïde, tenue à Varsovie au mois de novembre 1932 sous les mêmes auspices, a recommandé d'uniformiser la technique de la réaction de Widal, en tenant compte de tous les facteurs de variation capables d'influencer les résultats et dans certains cas diminuer même la valeur diagnostique de cette réaction.

Pour arriver à ce but des études préliminaires étaient nécessaires. A la suite des suggestions du professeur M. Ciuca, nous avons abordé tout d'abord le problème de la réaction de Widal à la lumière des nouvelles connaissances sur la structure antigénique des germes.

Nous apportons dans ce modeste travail nos observations recueillies dans un milieu d'endémicité typhique, ainsi qu'un nombre de faits expérimentaux que nous estimons utiles pour l'amélioration de nos méthodes de diagnostic.

Le phénomène de l'agglutination des germes, en présence d'un

(1) Travail reçu le 5 juillet 1935.

sérum d'animal immunisé décrit par BORDET en 1895, et par GRÜBER et DURRHAM en 1896, a ouvert un nouvel horizon dans l'immunologie. Les applications pratiques n'ont pas tardé à mettre en évidence l'importance de ce fait dans le diagnostic de certaines infections. D'ailleurs, CHARRIN et ROGER avaient signalé, dès l'année 1889, le développement en grumeaux des bactéries cultivées dans des milieux nutritifs additionnés de sérum immun.

Le séro-diagnostic de Widal, la réaction de Weil et Félix, l'identification des agents pathogènes isolés des cas de maladies infectieuses, etc., continuent à bénéficier des avantages offerts par la méthode d'agglutination.

Le séro-diagnostic de Widal cependant, considéré comme une des méthodes les plus sûres pour la confirmation du diagnostic dans les cas de fièvre typhoïde à hémoculture et isolement de germes négatifs, reste négatif dans un nombre important de cas, parfois même pendant la période de convalescence.

Un bon nombre d'auteurs, parmi lesquels nous citons PIJPER (à Prétoria) et FÉLIX (en Palestine, 1924), ont observé de nombreux cas de fièvre typhoïde dans lesquels la réaction habituelle de Widal, pratiquée à n'importe quelle période de la maladie, apparaissait tard ou restait complètement négative.

Sur 120 cas de fièvre typhoïde sûre, Pijper trouve 34 réactions négatives au titre agglutinatif de 1/40; si le titre agglutinant avait été fixé à 1/20, 18 % présentaient une réaction négative.

Toutefois la réaction de fixation du complément était dans la plupart de ces cas positive, ce qui l'a déterminé à proposer la substitution de la réaction de Widal par la réaction de fixation du complément. Des faits similaires ont été observés par différents auteurs.

Des nouvelles acquisitions faites dans le domaine de la bactériologie et de l'immunologie apportent une contribution importante à l'étude de ces méthodes. En effet, les vieux dogmes de Koch et de l'école allemande, qui considéraient les espèces bactériennes fixes, non changeables, rigidement définies par une série de conditions standardisées, ne peuvent plus tenir devant le phénomène des variations microbiennes dont la documentation s'est tellement enrichie au cours des dernières années. Il est probable que nul autre sujet dans toute la science de la bactériologie n'a ouvert tant d'horizons nouveaux, comme celui de la variation microbienne. Les travaux récents sur la variation microbienne et sur la structure antigénique, basés sur la réac-

tion de l'agglutination, ont trouvé la plus large application dans le groupe des bacilles typho-paratyphiques.

Les connaissances sur la différence essentielle au point de vue antigénique, entre la substance flagellaire et somatique, ont apporté en immunologie une interprétation plus adéquate.

Le problème des variations microbiennes a été repris au cours des dernières années principalement par Arkwrigt en Angleterre, par de Kruif aux Etats-Unis, et par Weil et Félix en Allemagne. Les résultats obtenus ne présentent pas seulement un intérêt théorique, mais ils apportent des possibilités d'application pratique aux problèmes de l'immunité et de l'épidémiologie.

Smith et Reagh, Reagh et Bayer (1913) avaient formulé la théorie de l'existence dans les germes mobiles des agglutinogènes : flagellaire « H » et somatique « O », capables de produire respectivement des agglutinines spécifiques.

Weil et Félix en 1916, étudiant l'agglutination du proteus X 19 par le sérum des typhiques, ont constaté que le sérum des malades n'agglutinait que le *X 19 et en grumeaux fins et compacts,* tandis que le sérum des lapins immunisés avec le X 19 agglutinait *plusieurs types de Proteus* en grands flocons.

La séparation de l'antigène « H » par Orcutt a permis à ces auteurs de pousser plus loin ces études. Sérologiquement l'antigène « O » donne une agglutinine de type granulaire, tandis que le sérum préparé avec l'antigène « H » donne l'agglutination du type flagellaire (flocons). Des essais d'adsorption des agglutinines ont démontré que l'antigène « O » adsorbe l'agglutinine homologue, tandis que l'antigène « H » adsorbe les agglutinines « O » et « H ». La forme « H » contient à la fois les deux sortes de récepteurs, tandis que la forme « O » ne contient que le récepteur somatique « O ».

Le sérum agglutinant préparé par inoculation du type « O » contient une seule agglutinine qui donne *l'agglutination fine granulaire,* spécifique pour le type « O », tandis que le sérum préparé avec la forme « H » contient les deux agglutinines.

L'agglutination spécifique du proteus X 19 est produite par l'agglutinine « O ».

Des observations similaires sur la structure antigénique ont été faites sur les bacilles typhiques, le groupe des Salmonelles, le vibrion cholérique et quelques-uns des microbes anaérobies. Aujourd'hui il est universellement reconnu que les microorganismes mobiles, autant les pluricilliaires, que les monocilliaires

(J. Balteanu) contiennent deux récepteurs antigéniques bien différenciés entre eux par des propriétés antigéniques et physico-chimiques.

Les recherches de Bruce White sur les Salmonelles ont montré l'importance de l'hypothèse du récepteur double de Weil et Félix, pour la clarification et les rapports filogénétiques des différents Salmonelles et leur variation. L'importance de ces recherches est des plus grandes, car elle permet d'expliquer les réactions sérologiques des différentes espèces microbiennes, ainsi que les différences entre une espèce et ses variantes.

ANALYSE DES RÉCEPTEURS DANS LE SÉRO-DIAGNOSTIC DE LA FIÈVRE TYPHOÏDE ET LE GROUPE DES PARATYPHOÏDES

La réaction de Widal classique devenait de plus en plus insuffisante, pendant et après la guerre, à la suite des conditions épidémiologiques et du grand nombre de vaccinés au T. A. B.

Les recherches sur les variantes microbiennes citées ci-dessus mettaient la question de l'emploi de l'agglutinine « O » dans les cas à réaction négative ou douteuse.

L'importance de la recherche des agglutinines « O » dans le diagnostic des maladies typho-paratyphiques a été démontrée par Pyjper, Félix et Olitzki, qui ont recommandé la réaction de Widal qualitative. Ils signalaient en vérité, de 1923 à 1926, un pourcentage de 28 % de cas de fièvre typhoïde dont le sérum ne contenait que l'agglutinine « O ».

La méthode d'analyse du récepteur qualitatif a un défenseur convaincu en Félix qui critique la réaction de Widal pour les motifs suivants : confusion indiscutable causée par la vaccination antityphique; stimulation non spécifique de l'agglutinine « H » par les infections non typhiques, etc. L'auteur recommande la recherche de l'agglutinine « H» chez les non-vaccinés seulement, et attire l'attention sur l'agglutinine « O » qui n'est pas influencée par la stimulation non spécifique. Stuart et Krikorian en 1929, en Palestine, ont appliqué la méthode sur un nombre de *2000 personnes, et ils considèrent que cette méthode réalise un progrès important dans les investigations sérologiques.* Combiesco et collaborateurs ont appliqué cette méthode en Roumanie.

*
**

Les conditions d'endémicité de la fièvre typhoïde dans la ville de Jassy nous ont permis d'apporter quelques contributions à l'étude de ce problème.

Les facteurs épidémiologiques de cette ville et les conditions permanentes de contamination de l'eau potable d'une part, l'utilisation du vaccin comme mesure de prophylaxie d'autre part, ont déterminé dans la population des conditions immunologiques spéciales, d'où ont résulté *des variations dans l'état de réceptivité des habitants et parfois des variations de l'aspect clinique de la maladie.*

Dans ces circonstances épidémiologiques, l'hémoculture, la biliculture et l'isolement de l'agent pathogène des matières fécales constituaient les seules méthodes de laboratoire valables qu'on pouvait utiliser pour confirmer un diagnostic clinique de fièvre typhoïde.

La séro-réaction de Widal ne possédait pas sa véritable valeur à cause des changements d'ordre humoral dans une population en état de vaccination, autant par voie artificielle que spontanément, à la suite des infections répétées avec des quantités de germes, insuffisantes pour déclancher la maladie, suffisamment importantes pour hausser le seuil de l'immunité.

Il faut cependant remarquer que, même dans ces conditions, le pourcentage des réactions négatives est assez important. A l'Hôpital des maladies infectieuses « Izolarea » de Jassy ont été hospitalisés, de 1923 à 1933, 812 cas cliniques de fièvre typhoïde. Sur ce nombre de cas :

238 ont été diagnostiqués par l'hémoculture et le séro-diagnostic de Widal;
328 cas par le séro-diagnostic de Widal seulement;
234 cas par l'hémoculture *(le séro-diagnostic de Widal restant négatif)*;
8 cas par la biliculture *(l'hémoculture et Widal négatifs)*;
4 cas par l'examen des *matières fécales (l'hémoculture et Widal négatifs).*

Parmi les 812 cas de fièvre typhoïde (en différents stades de la maladie), la séro-réaction de Widal a été négative dans 246 cas, ce qui donne un pourcentage de 30,29 %.

Ces chiffres ne sont pas particuliers au Laboratoire régional de bactériologie de Jassy ; une série de chercheurs ont observé ce fait. Ainsi PIJPER, à Prétoria, sur un nombre de 120 cas de fièvre typhoïde sûre, *trouve* 34 fois (28,33 %) *la réaction négative,* bien que le titre de l'agglutination pour le diagnostic était de *1/40 seulement*; ces auteurs trouvent que dans la majorité de ces cas la réaction de fixation du complément était positive; à l'Hôpital « Izolarea » on pratique, depuis l'année 1928, la réaction de fixation toutes les fois que la séro-réaction de Widal est négative.

En dehors de la valeur limitée du séro-diagnostic de Widal dans le diagnostic de la fièvre typhoïde, les résultats de cette réaction peuvent encore prêter à la confusion quand il s'agit d'une population vaccinée. Le titre de l'agglutination flagellaire du sérum peut encore monter au cours d'une infection intercurrente non spécifique et nous donner un séro-diagnostic positif en absence d'une fièvre typhoïde, l'origine du pouvoir agglutinant de ces sérums étant dans les vaccinations antérieures.

Nous nous sommes heurtés plus d'une fois à des difficultés dans la confirmation du diagnostic, difficultés qui aujourd'hui peuvent être en partie évitées, grâce à l'emploi des antigènes somatique et flagellaire.

Pendant l'épidémie de fièvre typhoïde survenue à Jassy en 1934, on a enregistré *190 cas* à l'Hôpital « Izolarea ». Parmi ceux-ci, un nombre de *29 cas n'ont pu être diagnostiqués par aucune des méthodes courantes de diagnostic de laboratoire* (essais d'isolement du bacille typhique par hémoculture et par la biliculture; recherche du bacille dans les matières fécales, et enfin séro-réaction de Widal).

Nous avons pratiqué, d'après la technique classique, sur ces mêmes malades, un nombre de 59 séro-réactions de Widal (dans quelques cas on les a répétées jusqu'à sept fois). La prise de sang a été faite, dans 7 cas au cours de la première semaine, dans 23 cas la deuxième semaine, dans 18 cas la troisième semaine, dans 6 cas la quatrième semaine et dans 5 cas après quatre semaines. Toutes ces 59 réactions nous ont donné d'une manière constante des *résultats négatifs,* même pour des dilutions de sérum à 1/50.

Le fait que ces méthodes courantes de laboratoire n'ont pas de valeur absolue pour le diagnostic de la fièvre typhoïde, ainsi que les motifs, déjà cités antérieurement, nous ont obligés à recourir à la technique de la réaction de Widal modifiée, mise en lumière par les nouvelles recherches sur la structure anti-

génique de la cellule microbienne, ainsi que par la manière différente de réagir d'un organisme malade, par comparaison à celle de l'organisme vacciné.

Dans ces 29 cas, qui n'ont pu être confirmés par aucune des méthodes classiques de laboratoire, en appliquant la séro-réaction de Widal qualitative, nous avons réussi à mettre en évidence *chez 20 malades l'agglutinine « O » seulement,* et chez les 9 autres les deux agglutinines « O » et « H ». Parmi ces 29 malades, 19 ont présenté une forme clinique bénigne, 8 la forme moyenne et 2 formes graves seulement.

Chez 23 d'entre eux, la maladie a évolué en moins de 40 jours. Sur le total de 29 malades, 9 seulement ont présenté des complications.

APPLICATION DE L'ANALYSE SÉRIQUE QUALITATIVE AU DIAGNOSTIC DE LA FIÈVRE TYPHOÏDE

La méthode de Widal utilisant un antigène complet peut mettre en évidence l'agglutinine « O » et « H » correspondante aux deux antigènes : somatique et flagellaire, et déterminer le titre de ces agglutinines.

D'après Félix, dans le sérum des malades de fièvre typhoïde, l'agglutinine « O » se développerait à un titre élevé, tandis que l'agglutinine « H » resterait à un titre moindre durant l'évolution de la maladie ou bien elle manquerait complètement. Les observations publiées par Gardner, Hobson et Stonhouse constituent un exemple démonstratif de l'importance de l'analyse sérique qualitative.

Félix cherche à établir un rapport entre le type des récepteurs et l'évolution clinique de la maladie. D'après lui il existerait un rapport entre la bacillémie et le type de l'agglutinine. La présence de l'agglutinine « H » ne correspondrait pas à une action bactéricide; par contre l'agglutinine « O » coïnciderait avec cette propriété. L'apparition précoce de l'agglutinine « O » serait parallèle avec la rareté des germes dans le sang et avec une bacillémie de courte durée. L'absence de cette agglutinine coïnciderait avec une bacillémie intense et persistante. Il existerait donc une relation étroite entre la gravité de la maladie et la quantité et la qualité des agglutinines.

*
**

Au cours de nos recherches nous avons tâché de suivre le plan suivant :

A. — Vérifier la présence des anticorps : flagellaire et somatique, dans le sérum des individus vaccinés avec le vaccin polyvalent T. A. B. (méthode de Kolle, vaccin chauffé).

B. — Chercher la présence des mêmes agglutinines dans le sérum des malades atteints de fièvre typhoïde.

C. — Mettre en évidence ces mêmes agglutinines chez des sujets ayant été en contact avec les malades de fièvre typhoïde.

Pour atteindre le premier but, nous avons effectué la séro-réaction de Widal qualitative à un nombre de 18 individus vaccinés avec le vaccin T. A. B. La récolte du sang était faite sept jours après la deuxième et après la troisième inoculation, et *quatre mois après la dernière inoculation* de vaccin.

Dans une seconde série de recherches, nous avons exécuté cette même réaction sur un nombre de 57 malades atteints de fièvre typhoïde, chez lesquels la réaction a été répétée dans les différents stades évolutifs de la maladie.

La dernière partie de notre travail comporte des recherches sur les propriétés agglutinantes de 10 sérums, récoltés sur des personnes bien portantes vivant dans un milieu (école-internat) où des cas de fièvre typhoïde avaient apparu.

*
**

Technique. — *Antigènes utilisés* :

1. Emulsion de bacilles typhiques : *a)* émulsion de germes vivants (T); *b)* même émulsion chauffée 2 heures à 100° (T_2).
2. Emulsion de bacilles para A : *a)* émulsion de para A (A); *b)* même émulsion chauffée 2 heures à 100° (A_2).
3. Emulsion de bacilles para B : *a)* émulsion de para B (B); *b)* même émulsion chauffée 2 heures à 100° (B_2).
4. Emulsion de typhique « O » purifiée par des passages successifs sur un milieu de culture phéniquée « O » 1 % (TO).
5. Suspension flagellaire de bacille typhique (Fl. T) de para A (Fl. A) et de para B (Fl. B), préparée de la manière suivante : la culture de 24 heures sur une plaque de Roux était émulsionnée dans 20-25 centimètres cubes de sérum physiologique; on l'agitait pendant 3 heures; ensuite elle était centrifugée jusqu'à ce que le liquide surnatant était parfaitement clair.

La lecture des résultats était faite après 3 heures de séjour à 37° et 24 heures dans une chambre froide.

Remarque. — L'agglutination avec la souche TH se présente en grands grumeaux floconneux qui disparaissent quand on agite le tube de réaction; l'agglutination du TO prend l'aspect de petits grumeaux compacts.

Les émulsions de germes vivants agglutinent à un titre plus élevé, tandis que les émulsions chauffées donnent l'agglutination à un titre beaucoup plus bas sous l'aspect de grumeaux compacts. L'agglutination avec une suspension flagellaire se présente exclusivement en grands flocons ayant l'aspect des flocons de neige.

A. — Présence des agglutinines O et H dans le sang des vaccinés au T. A. B.

Nous avons utilisé dans les séro-réactions des antigènes préparés d'après la méthode décrite ci-dessus. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

TABLEAU I

N° du vacciné	Titre de l'agglutinine	7e jour après la 2e vaccination	7e jour après la 3e vaccination	4 mois après la dernière inoculation
1.....	T	1/500	1/750	1/250
	TO	1/250	1/250	1/50
	Fl. T	1/1600	1/2000	1/40
2.....	T	1/750	1/750	1/100
	TO	1/250	1/250	1/
	Fl. T	1/400	1/1600	1/40
3.....	T	1/750	1/1000	1/750
	TO	1/500	1/750	1/100
	Fl. T	1/800	1/1600	1/80
4.....	T	1/500	1/750	1/250
	TO	1/500	1/500	1/250
	Fl. T	1/1800	1/1600	1/80
5.....	T	1/1000	1/1000	1/750
	TO	1/1000	1/750	1/250
	Fl. T	1/800	1/2000	1/200
6.....	T	1/500	1/500	1/250
	TO	1/100	1/500	1/50
	Fl. T	1/400	1/800	1/40
7.....	T	1/1000	1/1000	1/250
	TO	1/500	1/500	1/50
	Fl. T	1/800	1/2000	1/80
8	T	1/750	1/750	1/500
	TO	1/200	1/750	1/100
	Fl. T	1/400	1/800	1/80
9.....	T	1/500	1/750	1/100
	TO	1/500	1/500	1/50
	Fl. T	1/1600	1/1600	1/20

N° du vacciné	Titre de l'agglutinine	7e jour après la 2e vaccination	7e jour après la 3e vaccination	4 mois après la dernière vaccination
10.....	T	1/550	1/750	1/500
	TO	1/250	1/250	1/100
	Fl. T	1/400	1/400	1/200
11.....	T	1/500	1/750	1/250
	TO	1/250	1/250	1/50
	Fl. T	1/400	1/400	1/40
12.....	T	1/500	1/1000	1/250
	TO	1/250	1/500	—
	Fl. T	1/400	1/600	1/40
13.....	T	1/250	1/750	1/50
	TO	1/250	1/250	—
	Fl. T	1/200	1/800	—
14.....	T	1/1000	1/1000	1/250
	TO	1/250	1/750	1/100
	Fl. T	1/800	1/800	1/20
15.....	T	1/1000	1/1000	1/250
	TO	1/250	1/500	1/50
	Fl. T	1/800	1/1600	1/40
16.....	T	1/500	1/750	1/250
	TO	1/250	1/500	1/250
	Fl. T	1/400	1/1600	1/80
17.....	T	1/1000	1/1000	1/250
	TO	1/250	1/500	1/250
	Fl. T	1/800	1/800	1/40
18.....	T	1/750	1/1000	1/750
	TO	1/500	1/500	1/250
	Fl. T	1/800	1/1600	1/200

Après la deuxième inoculation, le sérum des vaccinés agglutine l'émulsion T (culture totale) jusqu'au titre de 1/250 en 2 cas; jusqu'à 1/500 en 7 cas; dans 9 cas, le titre atteint 1/750-1/1000. La suspension flagellaire typhique est agglutinée en moyenne jusqu'au 1/800.

Dans tous ces cas, la souche « O » cultivée sur un milieu contenant de l'acide phénique est agglutinée jusqu'à un titre de 1/250-1/500.

Les émulsions, chauffées 2 heures à 100°, agglutinent très faiblement le titre ne dépassant pas 1/100.

Les émulsions du bacille para A et B, aussi bien vivants que chauffés, sont agglutinés à un titre réduit. La suspension flagellaire para A et B est agglutinée à un titre réduit ou n'est pas du tout agglutinée.

Après la troisième inoculation, le sérum agglutine le bacille

typhique vivant de 1/500 jusqu'à 1/1000 et même au-dessus de ce titre. L'agglutination des suspensions flagellaires de bacilles typhiques va jusqu'au titre 1/2000 et même à 1/4000.

Les émulsions A et B, ainsi que les suspensions flagellaires para A et para B, ont gardé en majorité le même titre.

La séro-agglutination, avec le « TO » cultivé sur des milieux phéniqués, atteint le titre de 1/500 pour 19 sérums, et de 1/750 seulement pour 4 sérums.

Les émulsions T_2, A_2 et B_2 (chauffées 2 heures à 100°) ont agglutiné jusqu'à un titre de 1/100 par quelques sérums; dans d'autres cas, le titre agglutinant est de 1/50 ou négatif.

Quatre mois après la dernière inoculation, le titre agglutinant de ces sérums a considérablement baissé. L'émulsion vivante totale T est agglutinée par 3 sérums à 1/100; par 10 sérums dans la dilution de 1/250, et seulement 5 sérums atteignent le titre de 1/500-1/750. L'antigène flagellaire typhique est agglutiné en moyenne de 1/80-1/200. Les émulsions para A et para B sont à peine agglutinées à 1/100 et les suspensions flagellaires correspondantes sont faiblement agglutinées ou pas du tout. L'émulsion « TO » est agglutinée par 5 sérums à un taux de 1/250; par 10 sérums à un titre réduit 1/50-1/100 ; 3 sérums n'agglutinaient pas.

Les émulsions T_2, A_2 et B_2 ne sont agglutinées que très rarement et alors le titre agglutinatif ne dépasse pas 1/50.

Il résulte de ces recherches que le sérum des sujets vaccinés au T. A. B. possède les deux agglutinines « H » et « O ». Le titre de l'agglutinine « H » est de beaucoup plus élevé que celui de l'agglutinine « O ». Le seuil de ces agglutinines s'élève après la troisième inoculation de vaccin, tout en gardant la même différence au point de vue quantitatif entre les différentes agglutinines. Les sérums récoltés quatre mois après la dernière inoculation indiquent une baisse considérable dans le titre des agglutinines « H »; le titre agglutinant pour le T total baisse de 25 à 75 %.

B. — Présence des agglutinines O et H dans le sang des typhiques.

Nos malades peuvent être divisés en 4 groupes au point de vue de leur anamnèse ou de la méthode de traitement.

I. — Un premier groupe comprend 23 malades qui n'avaient jamais subi de vaccination antitypho-paratyphique avant leur

maladie; ils n'ont pas été non plus soumis à une vaccinothérapie au cours de la maladie.

Nous donnons ici, en résumé, un tableau des résultats de l'analyse sérique qualitative pratiquée avec le sérum de ces *23 malades*; le sang a été récolté aux différents stades évolutifs de la maladie. *Chez 11 de ces malades, nous avons pu mettre en évidence une seule agglutinine* : c'est l'agglutinine « *O* », tandis que les autres 12 malades ont présenté les deux agglutinines « O » et « H » (tableau II).

TABLEAU II

N.° Obs.								
	Jour de la maladie :	14e	21e	28e	32e			
1.	T. aggl. : T	1/1000	1/1500	1/1000	1/750			
	TO	1/1000	1/1500	1/1000	1/750			
	Jour de la maladie :	19e	26e	34e				
2.	T. aggl. : T	1/100	1/100	1/750				
	TO	1/100	1/100	1/750				
	Jour de la maladie :	19e						
3	T. aggl. : T	1/500						
	TO	1/1500						
	Jour de la maladie :	14e	21e	31e				
4.	T. aggl. : T	1/250	1/250	1/500				
	TO	1/750	1/1000	1/1500				
	Jour de la maladie :	17e						
5.	T. aggl. : T	1/250						
	TO	1/1000						
	Jour de la maladie :	7e	14e	29e				
6.	T. aggl. : T	1/100	1/500	1/500				
	TO	1/250	1/1000	1/750				
	Jour de la maladie :	20e	27e	34e	43e			
7.	T aggl. : T	1/500	1/500	1/250	1/250			
	TO	1/500	1/500	1/750	1/500			
	Jour de la maladie :	11e	18e	24e				
8.	T. aggl : T	1/100	1/100	1/100				
	TO	1/250	1/250	1/250				
	Jours de la maladie :	11e	18e	25e	32e			
9.	T. aggl. : T	1/500	1/500	1/250	1/250			
	TO	1/750	1/750	1/500	1/500			
	Jour de la maladie :	6e	13e	20e	28e	35e	42e	51e
10.	T. aggl : T	1/250	1/250	1/500	1/750	1/1000	1/1000	1/1000
	TO	1/750	1/1000	1/1000	1/1500	1/1500	1/1500	1/1500
	Jour de la maladie :	17e						
11.	T. aggl. : T	1/500						
	TO	1/2000						

N°s Obs.								
	Jour de la maladie :	33e	40e	56e	64e	72e	79e	
12.	T. aggl. : T	1/750	1/750	1/1000	1/1500	1/2000	1/2000	
	TO	1/1500	1/1500	1/2000	1/2000	1/2000	1/2000	
	Fl. T	—	—	—	1/20	1/40	1/80	
	Jour de la maladie :	19e	26e	33e	40e			
13.	T. aggl. : T	1/100	1/100	1/250	1/500			
	TO	1/500	1/750	1/1000	1/750			
	Fl. T	—	1/20	1/20	1/20			
	Jour de la maladie :	11e	19e	26e	33e	40e		
14.	T. aggl. : T	1/100	1/500	1/500	1/500	1/500		
	TO	1/500	1/500	1/750	1/750	1/1500		
	Fl. T	—	—	—	1/20	1/20		
	Jour de la maladie :	15e	22e	29e	36e	44e	51e	
15.	T. aggl. : T	1/250	1/250	1/500	1/500	1/500	1/750	
	TO	1/750	1/1000	1/1000	1/1000	1/1000	1/1000	
	Fl. T	—	—	—	—	—	1/40	
	Jour de la maladie :	17e	24e	31e	38e	48e	57e	
16.	T. aggl. : T	1/1000	1/1000	1/1000	1/1000	1/1000	1/1500	
	TO	1/1000	1/1000	1/1500	1/2000	1/3000	1/3000	
	Fl. T	—	—	—	1/40	1/80	1/80	
	Jour de la maladie :	9e	16e	23e	31e	38e	46e	54e
17.	T. aggl. : T	1/500	1/500	1/750	1/750	1/750	1/1000	1/1000
	TO	1/1500	1/1500	1/2000	1/1500	1/2000	1/3000	1/3000
	Fl. T	1/40	1/40	1/40	1/40	1/40	1/200	1/200
	Jour de la maladie :	10e	17e	24e				
18.	T. aggl. : T	1/500	1/500	1/500				
	TO	1/500	1/750	1/750				
	Fl. T	—	—	1/20				
	Jour de la maladie :	9e	17e					
19.	T. aggl. : T	1/750	1/1000					
	TO	1/750	1/2000					
	Fl. T	1/20	1/20					
	Jour de la maladie :	14e						
20.	T. aggl. : T	1/1000						
	TO	1/1000						
	Fl. T	1/20						
	Jour de la maladie :	17e	24e					
21.	T. aggl. : T	1/750	1/750					
	TO	1/750	1/1500					
	Fl. T	1/20	1/80					
	Jour de la maladie :	22e						
22.	T. aggl. : T	1/750						
	TO	1/1500						
	Fl. T	1/20						
	Jour de la maladie :	26e						
23.	T. aggl. : T	1/500						
	TO	1/1500						
	Fl. T	1/80						

On voit, d'après ces tableaux, que le sérum de tous ces 23 malades agglutinait de manière constante le bacille typhique de routine du laboratoire (T) qui contient les deux antigènes « O » et « H ».

11 de ces malades ont présenté une seule agglutinine.

Parmi les 12 malades, qui ont présenté dans leur sérum les deux agglutinines « O » et « H », chez 6 d'entre eux, l'agglutinine « O » apparaissait la première. Chez les 6 autres, la première récolte de sérum, qui coïncidait avec leur entrée à l'hôpital, montrait les deux agglutinines à la fois : « O » et « H ».

Forme de la maladie et présence des agglutinines O et H. — En cherchant à voir s'il existe une relation entre la présence des agglutinines d'une part, et la gravité, la durée, l'évolution de la maladie ainsi que les complications, d'autre part, nous trouvons les faits suivants :

a) 14, sur les 23 malades, ont présenté une forme clinique grave; sur ces 14 cas, 5 présentaient l'agglutinine « O » seulement (de ces 5 malades, 1 a succombé); parmi les autres 9 cas à agglutinines « O » et « H », 4 ont succombé.

b) 4 autres malades ont présenté une forme clinique régulière. Dans 2 de ces cas, nous avons trouvé une seule agglutinine « O »; dans les 2 autres, les agglutinines « O » et « H ».

c) Sur 5 malades, qui ont présenté une forme clinique bénigne, 4 seulement avaient l'agglutinine « O » et un seul les deux agglutinines « O » et « H ».

Durée de la maladie et présence d'agglutinines. — En ce qui concerne la durée de la maladie, sur les 23 cas compris dans cette catégorie, chez 11 malades, la maladie a évolué en moins de 40 jours (8 ayant l'agglutinine « O » et 3 les deux agglutinines).

Dans 7 cas, l'évolution de la maladie a dépassé 40 jours (à savoir, 2 malades avec l'agglutinine « O » et 5 malades avec les deux agglutinines « H » et « O ». 5 malades ont succombé pendant l'évolution de la maladie.

Sur les 23 malades, 13 ont présenté des complications: 4 de ces malades avaient seulement l'agglutinine « O »; 9 ont présenté les deux agglutinines « O » et « H ». Sur les 10 autres malades n'ayant présenté aucune complication, 7 possédaient l'agglutinine « O » et 3 l'agglutinine « O » et « H ».

II. — Le deuxième groupe comprend *23 malades non vaccinés antérieurement au T. A. B.* et qui ont subi *une vaccinothérapie au cours de la maladie,* soit avec un vaccin typhique polyvalent (souches isolées de la même épidémie); soit avec un autovaccin, soit avec un vaccin mixte T. A. B. (préparé d'après la méthode de Kolle).

Au cours de la vaccinothérapie, on a utilisé les doses sous-réactionnelles. La quantité et la date de l'inoculation étaient indiquées par la réaction locale et générale et l'état d'intoxication du malade.

Dans tous ces cas, on a utilisé des vaccins chauffés : une culture sur gélose de 24 heures émulsionnée en 10 centimètres cubes de sérum physiologique et tuée par chauffage à 59° pendant 60 minutes.

La vaccination commençait avec la dilution 1/10.000; ensuite elle montait à 1/5000 et à 1/1000 (tableau III).

Les résultats de ces observations sont résumés dans le tableau III.

TABLEAU III

N°s Obs.								
	Jour de la maladie :	9e	16e	24e	31e	38e	46e	
1.	T. aggl. : T	1/1000	1/1500	1/1000	1/1000	1/1000	1/1500	
	TO	1/1500	1/3000	1/4000	1/4000	1/3000	1/3000	
	Fl. T	—	—	—	—	1/20	1/40	
	Jour de la maladie :	31e	38e	45e	52e	59e	66e	73e
2.	T. aggl. : T	1/250	1/250	1/250	1/250	1/500	1/500	1/1500
	TO	1/750	1/750	1/1000	1/1000	1/2000	1/2000	1/3000
	Fl. T	—	—	—	—	1/20	1/40	1/80
	Jour de la maladie :	16e	23e	31e				
3.	T. aggl. : T	1/750	1/1000	1/1500				
	TO	1/1500	1/4000	1/4000				
	Fl. T	—	—	1/200				
	Jour de la maladie :	11e	18e	27e	34e			
4.	T. aggl. : T	1/250	1/500	1/500	1/500			
	TO	1/750	1/1000	1/1500	1/750			
	Fl. T	—	—	1/20	1/20			
	Jour de la maladie :	7e	14e	22e	29e			
5.	T. aggl. : T	1/500	1/750	1/750	1/1000			
	TO	1/500	1/750	1/1000	1/1000			
	Fl. T	—	—	1/80	1/200			
	Jour de la maladie :	9e	17e	23e				
6.	T. aggl. : T	1/250	1/250	1/250				
	TO	1/250	1/250	1/500				
	Fl. T	—	—	1/20				

N°s Obs.									
	Jour de la maladie :	16e	23e	31e	38e	44e			
7.	T. aggl. : T	1/250	1/750	1/750	1/750	1/750			
	TO	1/250	1/750	1/1000	1/750	1/750			
	Fl. T	—	—	—	1/40	1/80			
	Jour de la maladie :	13e	20e	26e	33e				
8.	T. aggl. : T	1/1000	1/1500	1/1500	1/1500				
	TO	1/1500	1/2000	1/2000	1/2000				
	Fl. T	—	—	1/40	1/200				
	Jour de la maladie :	23e	30e	37e	45e	52e	60e	68e	74e
9.	T. aggl. : T	1/500	1/500	1/750	1/750	1/750	1/750	1/750	1/750
	TO	1/1000	1/1000	1/1000	1/1000	1/1000	1/1500	1/1500	1/1500
	Fl. T	—	—	—	—	—	—	—	1/20
	Jour de la maladie :	10e	17e	24e	34e	41e			
10.	T. aggl. : T	1/1000	1/1000	1/1000	1/1000	1/1000			
	TO	1/2000	1/2000	1/3000	1/3000	1/2000			
	Fl. T	—	—	—	—	1/40			
	Jour de la maladie :	10e	19e	26e	33e	40e	47e	55e	72e
11.	T. aggl. : T	1/50	1/250	1/1000	1/1000	1/250	1/500	1/500	1/250
	TO	1/50	1/750	1/1500	1/2000	1/750	1/500	1/500	1/500
	Fl. T	—	—	—	—	—	1/20	1/20	1/40
	Jour de la maladie :	13e	20e	27e	34e	41e	47e		
12.	T. aggl. : T	1/750	1/750	1/750	1/1500	1/1500	1/1500		
	TO	1/750	1/750	1/750	1/750	1/500	1/500		
	Fl. T	—	—	—	1/20	1/80	1/200		
	Jour de la maladie :	26e	33e	38e	45e				
13.	T. aggl. : T	1/250	1/250	1/500	1/500				
	TO	1/1000	1/1000	1/2000	1/2000				
	Fl. T	—	—	—	1,20				
	Jour de la maladie :	11e	18e	25e	32e	39e			
14.	T. aggl. : T	1/50	1/250	1/250	1/250	1/500			
	TO	1/100	1/250	1/250	1/250	1/250			
	Fl. T	—	—	—	—	1/20			
	Jour de la maladie :	30e	37e	44e	51e	58e	67e	73e	
15.	T. aggl. : T	1/250	1/250	1/250	1/250	1/250	1/250	1/250	
	TO	1/250	1/250	1/250	1 250	1/250	1/250	1/250	
	Fl. T	—	—	—	—	—	—	—	
	Jour de la maladie :	80e	90e	99e					
	T. aggl. : T	1/500	1/250	1/500					
	TO	1/500	1/250	1/250					
	Fl. T	—	1/20	1/20					
	Jour de la maladie :	11e	18e	25e	30e				
16.	T. aggl. : T	1/750	1/750	1/1000	1/1500				
	TO	1/1500	1/2000	1/2000	1/3000				
	Fl. T	—	—	1/80	1/400				
	Jour de la maladie :	23e	31e	38e	45e	57e			
17.	T. aggl. : T	1/750	1/750	1/750	1/1000	1/1000			
	TO	1/1000	1/1000	1/1000	1/1000	1/2000			
	Fl. T	—	—	1/20	1/80	1/80			

N°s Obs.								
	Jour de la maladie :	23e	31e	38e	45e	53e	57e	
18.	T. aggl. : T	1/250	1/250	1/250	1/500	1/750	1/750	
	TO	1 750	1/750	1/750	1/1000	1/1000	1/1000	
	Fl. T	—	—	—	1/20	1/20	1/80	
	Jour de la maladie :	35e	42e	49e	53e	60e	70e	77e
19.	T. aggl. : T	1/250	I/750	1/750	1/250	1/500	1/500	1/500
	TO	1/250	1/500	1/500	1/250	1/250	1/250	1/250
	Fl. T	1/20	1/40	1/80	1/80	1/80	1/80	1/200
	Jour de la maladie :	87e	97e					
	T. aggl. : T	1/750	1/750					
	TO	1/500	1/500					
	Fl. T	1/200	1/400					
	Jour de la maladie :	17e	25e	31e	38e	45e		
20.	T. aggl. : T	1/500	1/500	1/500	1/500	1/750		
	TO	1/750	1/1000	1/1000	1/1000	1/1000		
	Fl. T	1/40	1/40	1/40	1/40	1/80		
	Jour de la maladie :	23e	30e	37e				
21.	T. aggl. : T	1/500	1/500	1/750				
	TO	1/1000	1/2000	1/2000				
	Fl. T	1/20	1/20	1/20				
	Jour de la maladie :	6e	13e	19e				
22.	T. aggl. : T	1/250	1/500	1/500				
	TO	1/750	1/1500	1/1500				
	Fl. T	—	1/40	1/200				
	Jour de la maladie :	23e	30e	37e	43e	47e	51e	59e
23.	T. aggl. : T	1/1000	1/1500	1/1500	1/1500	1/2000	1/1500	1/1500
	TO	1/1000	1/1500	1/1500	1/1500	1/2000	1/1500	1/1500
	Fl. T	—	1/80	1/80	1/80	1/80	1/200	1/200

Chez tous ces 23 malades, on a donc mis en évidence deux agglutinines « O » et « H ». Dans 5 cas, l'agglutinine « H » apparaissait avant la vaccinothérapie; dans 18 cas, après la vaccination. Dans 20 cas, la date de l'apparition de l'agglutinine « O » est précoce (le sixième jour, obs. n° 22 ; le septième jour, obs. n° 5) et précède l'apparition de l'agglutinine « H » (obs. n°s 1, 5, 9, 10 et 11).

Sur ces 23 cas, 7 ont présenté *une forme clinique grave,* 9 une forme régulière et 7 une forme clinique bénigne.

En ce qui concerne la durée de la maladie, elle a évolué dans 10 cas en moins de 40 jours, et dans 13 cas en plus de 40 jours.

Sur ces 23 malades, 11 n'ont présenté aucune complication dans le cours de la maladie.

III. — Le troisième groupe comprend 8 malades qui avaient subi la vaccination par le T. A. B. antérieurement à la maladie actuelle, et qui n'ont pas été soumis à la vaccinothérapie spécifique pendant l'évolution de la maladie (tableau IV).

TABLEAU IV

N° Obs.						
	Jour de la maladie :	17e	24e	31e	38e	
1.	T. aggl. : T	1/1000	1/1000	1/750	1/750	
	TO	1/1500	1/1500	1/3000	1/3000	
	Fl. T	—	—	—	—	
	Jour de la maladie :	22e	29e			
2.	T. aggl. : T	1/750	1/750			
	TO	1/750	1/750			
	Fl. T	—	—			
	Jour de la maladie :	8e	13e	20e	27e	34e
3.	T. aggl. : T	1/750	1/750	1/1000	1/1000	1/1000
	TO	1/1000	1/1000	1/1000	1/1500	1/2000
	Fl. T	—	—	—	—	—
	Jour de la maladie :	11e				
4.	T. aggl. : T	1/250				
	TO	1/1000				
	Fl. T	—				
	Jour de la maladie :	10e	17e	25e	32e	
5.	T. aggl. : T	1/100	1/250	1/250	1/250	
	TO	1/100	1/250	1/250	1/250	
	Fl. T	—	—	—	—	
	Jour de la maladie :	12e	22e			
6.	T. aggl. : T	1/250	1/1000			
	TO	1/500	1/1000			
	Fl. T	—	—			
	Jour de la maladie :	7e	14e	21e		
7.	T. aggl. : T	1/500	1/500	1/500		
	TO	1/750	1/1000	1/1000		
	Fl. T	1/80	1/80	1/80		
	Jour de la maladie :	13e	19e	26e	33e	
8.	T. aggl. : T	1/250	1/250	1/500	1/1000	
	TO	1/1500	1/1500	1/2000	1/3000	
	Fl. T	1/20	1/20	1/20	1/40	

Remarques. — Chez 6 de ces malades, on a donc pu mettre en évidence seulement *l'agglutinine « O »*. Ils avaient été antérieurement complètement vaccinés par le T. A. B. (18, 17, 15, 7 et 4 ans avant la maladie actuelle). Un autre malade, vacciné une semaine avant la déclaration de la maladie, avait reçu une seule inoculation. Cette agglutinine a été mise en évidence dès le

huitième jour de la maladie (obs. n° 3); le dixième jour (obs. n° 5) et le onzième jour (obs. n° 4).

A 2 autres malades, vaccinés deux ans avant la maladie actuelle, on a pu mettre en évidence simultanément les deux agglutinines « O » et « H » ; dans un cas, le 7e jour, et dans le deuxième, le 13e jour de la maladie.

Classés d'après la forme clinique, ces 8 malades ont présenté : 1 malade à forme grave avec fin léthale, on a mis en évidence l'agglutinine « O » seulement; 2 malades avec forme clinique régulière : un avec l'antigène « O », l'autre les deux agglutinines; enfin 5 malades ont présenté une forme clinique bénigne : chez 4 d'entre eux, on a mis en évidence l'agglutinine « O » seulement, et chez un seul les agglutinines « O » et « H ».

Chez 7 d'entre ces cas, la maladie a évolué en moins de 40 jours; parmi ceux-ci, 5 présentaient l'agglutinine « O »; 2 les deux agglutinines « O » et « H ».

Chez le huitième malade, l'agglutinine « O » seulement a été mise en évidence; le quatorzième jour de la maladie, il a succombé.

Dans un seul cas qui a présenté des complications, nous avons trouvé l'agglutinine « O » . Sur les 6 autres sans complications, 4 présentaient l'agglutinine « O » et 2 l'agglutinine « O » et « H ».

IV. — Le quatrième groupe de malades comprend 3 malades vaccinés préalablement au T. A. B., et soumis à la vaccination au cours de la maladie (tableau V).

TABLEAU V

	Jour de la maladie :	14e	25e	31e	40e
1.	T. aggl. : T	1/500	1/500	1/250	1/250
	TC	1/2000	1/2000	1/2000	1/1500
	Fl. T	—	—	—	—
	Jour de la maladie :	11e	19e	26e	
2.	T. aggl. : T	1/500	1/500	1/500	
	TO	1/1500	1/1500	1/2000	
	Fl. T	—	—	—	
	Jour de la maladie :	13e	20e	27e	
3.	T. aggl. : T	1/500	1/750	1/1000	
	TO	1/500	1/1500	1/1500	
	Fl. T	1/80	1/80	1/80	

Sur ces 3 cas, 2 seulement présentaient l'agglutinine « O »; de ces deux malades, un seul avait été complètement vacciné, 18 ans avant; l'autre avait reçu une seule inoculation au cours de cette

même année. Chez un seul malade, on a trouvé les agglutinines « O » et « H » ; ce malade avait été complètement vacciné, plusieurs fois.

Tous les 3 malades ont eu une forme clinique à allure classique. Dans 2 cas, la maladie a évolué en moins de 40 jours, l'un ayant les agglutinines « O » et « H ». Au troisième malade, l'agglutinine « O » seulement a été mise en évidence et la maladie a évolué en plus de 40 jours.

Un seul de ces malades n'a présenté aucune complication; les deux agglutinines, « O » et « H », avaient été mises en évidence dans son sérum.

ANALYSE SÉRIQUE QUALITATIVE CHEZ LES SUJETS BIEN PORTANTS D'UN MILIEU ÉPIDÉMIQUE (ECOLE-INTERNAT)

Nous donnons ici les résultats de la séro-réaction de Widal qualitative; pratiquée chez 10 élèves bien portants de l'Ecole « des Arts et Métiers », où l'on avait enregistré, parmi les élèves, 6 cas de fièvre typhoïde. Ces malades ont été confirmés par les moyens bactériologiques et ont été soignés à l'Hôpital « Izolarea » de Jassy.

On a choisi les individus bien portants, parmi les élèves internes de cette école, vivant en commun dans les dortoirs et les ateliers avec les malades avant d'avoir été isolés dans l'infirmerie de l'école.

Les élèves d'apparence bien portants étaient choisis parmi ceux qui avaient été dans le plus proche voisinage des cas de fièvre typhoïde.

4 de ces élèves n'étaient pas vaccinés; 6 avaient subi une vaccination complète au T. A. B.

La séro-réaction a été pratiquée tant avec les bacilles typhiques de routine du laboratoire qu'avec le bacille typhique isolé par hémoculture chez l'un des élèves malades, et qui était agglutinable par notre sérum-étalon du laboratoire.

TABLEAU VI

		a) Germes vivants					b) Germes, 2 h. à 100°					c) Antigène flagell.				
		T	TO	A	B	T épid.	TO épid.	T_2	A_2	B_2	T_2 épid.		T	A	B	T épid.
1.	50	+	−	−	−	−	+++	−	−	−	−	20	−	−	−	−
	100	−					++									
2.	50	−	−	−	−	−	++	−	−	−	−	20	−	−	−	−
	100						+									
3.	50	−	−	−	−	−	+++	−	−	−	−	20	−	−	−	−
	100						++									
	250						±									
4.	50	+	+	−	−	+	++++	−	−	−	−	20	−	−	−	−
	100					+	+++									
	250						++									
5.	Vacciné, 1927 :															
	50	++	+++	+	++	+	+++	++	+	+	−	20	−	−	−	−
	100	+	++			+	+++	+								
	250	±	+				++									
6.	Vacciné, 1931 :															
	50	+	+	−	+	−	++	−	−	−	−	20	−	−	−	−
	100						+									
7.	Vacciné, 1931-32 :															
	50	+++	+	−	+	+++	++++	+	−	−	−	20	++	−	−	++++
	100	++				++	+++					40	+			+++
	250					+	++					80				+
8.	Vacciné, 1932 :															
	50	++	+	+	+	+++	+++	−	−	−	−	20	+	−	+	++++
	100	+				++	++									
	250					+										
9.	Vacciné, 1933 :															
	50	++	+	+	+	+++	++++	−	−	−	−	20	++	−	−	++++
	100	+				++	+++					40	+			++++
	250					+	+					80				++
10.	Vacciné, 1933 :															
	50	++	+	+	+	++	+++	+	−	+	−	20	++	−	−	+++
	100	+				+	++					40	+			+

Dans le sérum des 4 élèves non vaccinés, on n'a pu mettre en évidence, ni la présence de l'agglutinine « O », ni celle de l'agglutinine « H », pour une émulsion préparée avec le bacille typhique de routine.

L'émulsion TO préparée avec le microbe isolé de l'épidémie de l'école est agglutinée par le sérum de 2 élèves dans la proportion de 1/100, et chez les 2 autres dans la proportion de 1/250.

Parmi les 6 autres élèves qui avaient été vaccinés au T. A. B., quelques années auparavant, chez 2 d'entre eux seulement l'agglutinine « O » a été mise en évidence (les émulsions ont été préparées avec la souche du laboratoire, ainsi que celle isolée au cours de cette épidémie). La vaccination de ces élèves avait été faite sept ans et quatre ans avant.

Chez les 4 autres élèves qui avaient été vaccinés un et deux ans auparavant, on a pu mettre en évidence la présence des deux agglutinines « O » et « H » (antigènes préparés avec les deux souches).

Le titre de l'agglutinine « O » et « H » est 2-5 fois plus grand pour les antigènes provenant de l'épidémie en cours.

SOMMAIRE ET CONCLUSIONS

L'étude de la structure antigénique des microbes mobiles a conduit à la constatation de la présence dans les cellules de ces micro-organismes de deux constituants bien différenciés : l'antigène somatique ou antigène « O », et l'antigène flagellaire ou l'antigène « H ». Ces deux constituants diffèrent entre eux tant par leurs propriétés antigéniques que par la manière de se comporter vis-à-vis de l'action des agents physico-chimiques (chaleur-alcool).

Nos recherches confirment les données que, *dans le sérum des malades atteints de fièvre typhoïde, apparaît d'habitude l'agglutinine « O »; dans le sérum des vaccinés, par contre, c'est l'agglutinine « H » qui apparaît dans un titre plus élevé.* Les infections intercurrentes, non spécifiques, greffées sur l'organisme d'un vacciné, pourraient donc réveiller la production des anticorps élevant, en particulier, le titre des anticorps « H ».

La séro-réaction d'agglutination diffère tant comme aspect que comme titre, suivant qu'elle est exécutée avec des sérums provenant des vaccinés (vaccin chauffé) ou avec des sérums provenant des malades de fièvre typhoïde.

Dans le sérum des vaccinés, le titre des agglutinines « H » croît graduellement avec le nombre des inoculations, atteignant après la troisième inoculation 1/2000-1/4000, pour baisser ensuite jusqu'à 1/200, quatre mois après la dernière inoculation. Le titre de l'agglutinine « O » est plus bas. La réaction à petits grumeaux compacts est toujours dominée par celle à grands flocons duve-

teux qui se déposent au fond du tube et disparaissent après agitation.

La réaction avec les sérums des malades se présente sous forme de petits grumeaux, qui se déposent au fond du tube en un réseau fin granulaire, ne disparaissant pas par agitation.

Le titre de l'agglutinine « O », dans le sérum des malades, décrit une courbe régulièrement ascendante, commençant dès les premiers jours de la maladie (1/100-1/3000) jusqu'un peu avant la convalescence, quand il commence à baisser. Parallèlement à ce type d'agglutinine, nous avons pu mettre en évidence la présence de l'agglutinine « H », mais à un titre beaucoup plus bas, 1/20-1/400. La discordance, entre le titre très élevé de l'agglutinine « O » et le titre bas de l'agglutinine « H », se maintient tant chez les malades ayant été vaccinés antérieurement au T. A. B. que chez les malades soumis à la vaccinothérapie spécifique pendant leur maladie. Chez tous les malades, l'agglutinine « O » apparaît dès les premiers jours de maladie; l'agglutinine « H » apparaît seulement chez quelques-uns des malades et beaucoup plus tardivement. *La présence de l'agglutinine « O » coïncide dans certains cas avec un caractère de bénignité.* En effet, il résulte de nos observations que *le nombre des cas graves est deux fois plus grand chez les malades qui présentent dans leur sérum les deux agglutinines (anti-O et anti-H). Pareillement, le nombre des cas mortels est quatre fois plus grand chez les malades avec l'agglutinine « O » et « H », que chez les malades avec l'agglutinine « O » seulement.*

La durée de l'évolution de la maladie est plus courte chez les malades avec l'agglutinine « O » ; le pourcentage des complications chez ces malades est un peu plus bas.

Chez les malades antérieurement vaccinés, nos résultats confirment, une fois de plus, l'influence favorable de la vaccination au T. A. B. sur la gravité de la maladie, la durée de son évolution, ainsi que sur la fréquence des complications.

Dans le sérum des individus en apparence bien portants, venus en contact avec les typhiques, ainsi que dans le sérum des malades, il apparaît l'agglutinine « O ». Mais la fréquence et le titre de l'agglutinine « O » est beaucoup plus grand, pour l'antigène préparé avec la souche isolée de l'épidémie même, que pour la souche-étalon du laboratoire.

La variation dans la nature et le titre des anticorps qui prennent naissance dans l'organisme malade et celui du vacciné, ainsi que la hausse du titre des anticorps « H » dans l'organisme des

vaccinés, après des infections non spécifiques intercurrentes. diminuent la valeur qu'on attribuait autrefois à la séro-réaction de Widal (technique classique). *Aujourd'hui, quand la pratique de la vaccination anti-typhique est tellement répandue pour la prophylaxie de cette maladie, la modification de la technique d'agglutination dans le sens de l'analyse qualitative s'impose pour l'exécution du séro-diagnostic de Widal.* Il est absolument nécessaire que la réaction soit exécutée de manière comparative, tant avec des émulsions du bacille typhique « O », qu'avec des émulsions du bacille typhique « H », ou avec des suspensions flagellaires du même bacille.

Il résulte de nos recherches que, chez 29 sur 190 malades de fièvre typhoïde, le diagnostic n'a pu être confirmé par aucune des méthodes courantes de laboratoire. Dans ces cas, la confirmation du diagnostic n'a pu être faite qu'à l'aide de l'analyse sérique qualitative des récepteurs. La supériorité de l'analyse sérique qualitative des récepteurs comme méthode de diagnostic est aujourd'hui unanimement reconnue, et la nécessité de la recherche des agglutinines du type « O » dans les infections à bacille typhique ou paratyphique est incontestable.

BIBLIOGRAPHIE

1. Arkwright (J.-A.) : *Journ. of Pathol. and Bact.*, 1921, XXIV, 36, 1.
2. Id. : *Ibid.*, 1924, V, 104 ; 1926, XXIX, 318 ; 1927, XXX, 345, 566; *Lancet*, 1929, II, 963.
3. Balteanu (I.) : *Journ. of Path. and Bact.*, vol. XXIX, 1926, 251.
4. Id. : *Revista Stiințelor Medicale*, 1926.
5. Beyer et Reagh : *Journ. Med. Research*, 1904, XII, 313.
6. Bordet (J.) : *Ann. Inst. Pasteur*, 1896, X, 193.
7. Id. : *Traité de l'Immunité*. Paris, Masson, 1920, 437.
8. Combiescu (D.), Iliescu (M.), Demetresco (N.) et Combiescu (M.) : *Arch. roum. de Path. exp. et Micr.*, t. IV, nos 3-4, 1931, p. 405.
9. Combiescu (D.) : *C. R. Soc. Biol.*, 1924, t. XCI, 732.
10. Dible (J.-H.) : *Recent advances in Bacteriology*. London, J.-A. Churchill, 1932.
11. Félix (A.) : *Journ. Immunol.*, 1924, IX, 115 ; 1926, XI, 31 ; — *Journ. Hyg.*, 1928, XXVIII, 418.
12. Félix (A.) et Olitzki (L.) : *Journ. Hygiene*, 1928, XXVIII, 55.
13. Kruif (P.-H. de) : *Proc. Soc. Exp. Biol. and. Med.*, 1921, XIX, 34.
14. Id. : *Journ. Exp. Med.*, 1921, XXXIII, 773 ; 1922, XXXV, 561.
15. Gardner (A.-D.), Hobson (F.-G.) et Stenhous (G.) : *The Lancet*, 1930, CCXVIII, 182.
16. Manoliu (E.) : *Teză de doctorat în medicină*, Iași, 1934.
17. Orcutt : *Journ. Exp. Med.*, 1924, XL, 43, 627.
18. Pijper (S.) : *African Med. Record*, 1923, XXI, 51.

19. Slatineanu (A.), Balteanu (I.) et Alexa (J.) : *Febra tifoidă în Iași*, 1931.
20. Slatineanu (A.), Balteanu (I.) et Zalman (M.) : *Vol. Jub. Prof. I. Cantacuzène*. Paris, Masson, 1934, 691.
21. Smith (Th.) et Reagh : *Journ. Med. Res.*, 1903, X, 89.
22. Stuart (F.-H.) et Krikorian : *Journ. Hyg.*, 1928, XXVIII, 105.
23. Topley (W.-W.) et Aryton : *Journ. Hygiene*, 1924, XXII, 234, 305.
24. Topley (W.-W.) et Wilson (G.-S.) : *The Principles of Bacteriology Immunity*, 1929, vol. I.
25. Weil (E.) et Félix : *Wien. Klin. Woch.*, 1917, XXX, 393, 1509.
26. Id. : *Zeitschr. f. Immuforsch.*, 1920, XXIX, 24.
27. Weil (E.) : *Zeitschr. f. Immunforsch.*, 1921, XXXI, 50.
28. White Bruce (P.). : *Med. Res. Council, Spec. Report series*, n° 103, 1926.
29. Id. : *Journ. Path. and Bact.*, 1927, XXX, 113.
30. Zalman (M.) : *Teză de doctorat*, Iași, 1932.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE HÉMATOLOGIQUE ET AU TRAITEMENT DE LA FILARIOSE CANINE

par

Fr. POPESCO

(Travail de l'Institut de Sérologie J. Cantacuzino et de la Clinique des Maladies contagieuses, Faculté de Médecine vétérinaire, Bucarest)

La filariose du chien est une maladie très répandue en Asie et en Amérique (Cadiot-Lesbouyries-Ries). D'après Hutyra et Marek, les filaires et les maladies qu'elles produisent se rencontrent fréquemment en Chine, au Japon et, plus rarement, aux Indes, au Tonkin, au Brésil, en Amérique, en Australie.

En Europe, cette maladie est fréquente en Italie et en Russie ; elle l'est moins dans le Nord de l'Allemagne, le Danemark et la Hongrie. Dans tous ces pays les cas les plus nombreux s'observent chez les chiens importés de l'Est de l'Asie ou y ayant séjourné quelque temps, sans que les animaux indigènes soient épargnés.

Janson affirme qu'au Japon 75 % des chiens infestés avec la *Filaria immitis* ne présentent aucun symptôme clinique, pouvant vivre pendant de longues années sans paraître malades.

Petropawlowsky, ayant examiné à Charcow le sang de 120 chiens vagabonds, les a trouvés presque tous infectés ; tandis que chez 83 autres chiens vagabonds, 2 seulement ont présenté des microfilaires dans le sang.

Galli Valerio, à Milan, a constaté, sur un total de 182 chiens autopsiés, 18,5 % de filariose hématique.

La filariose du chien est une maladie fréquente dans la Serbie méridionale. Dans les provinces septentrionales de l'Argentine, 34 % des chiens sont porteurs de microfilaires (Mazza et Rosenbusch).

Rousseau, au Cameroun, et Bauche, à Hué (Annam), ont trouvé que 30-60 % des chiens étaient infestés. D'après Jakinoff, dans le Turkestan russe, 10,21 % des chiens sont infestés ; ceci a permis de faire d'intéressantes observations sur la maladie.

LA FILARIOSE CANINE EN ROUMANIE

La Roumanie ne figure point parmi les pays avec filariose canine. Cependant Motas, pour la première fois, en 1903, cite un cas de filariose canine diagnostiquée par l'examen microscopique du sang, cas qui fut identifié par Railliet, après l'examen des embryons, comme étant dû à la *Filaria immitis Leidy*.

En 1916, Popovici, examinant 36 chiens (présentés à la clinique) ayant des lésions de dermatite pustuleuse, trouva des microfilaires dans la circulation générale de 50 % d'entre eux.

Chaque année, mais surtout pendant l'hiver et au printemps, il se présente aux cliniques de la Faculté de Médecine vétérinaire, et surtout à la clinique des maladies contagieuses, un assez grand nombre de chiens, généralement des chiens de chasse, malades de filariose. Contrôlant les données statistiques de la clinique du 1er mars 1920 jusqu'au 1er septembre 1933, nous avons trouvé les chiens suivants malades de filariose, que l'examen microscopique confirma :

En 1925.....	5	chiens	à 2	propriétaires	différents ;
1926.....	3	—	3	—	—
1928.....	6	—	3	—	—
1929.....	1	—	1	—	—
1930.....	4	—	4	—	—
1931	5	—	3	—	—
1932.....	7	—	5	—	—
1933.....	1	—	1	—	—

c'est-à-dire 32 chiens appartenant à 22 propriétaires. De 1920 à 1925, et en 1927, aucun cas n'a été signalé.

Une étude complète sur la fréquence et la répartition de la filariose canine en Roumanie ne peut encore être établie d'après les données actuelles. Cependant, d'après la statistique de la clinique des maladies contagieuses de la Faculté de Médecine vétérinaire et d'autres cliniques, il résulte que la maladie est assez répandue à Bucarest et dans toute la plaine du Danube, surtout dans les régions très impaludées.

En général, la maladie semble plus fréquente chez les chiens de chasse : ceux-ci, étant amenés dans des régions marécageuses, infestées de moustiques, sont plus exposés aux piqûres, grâce à leurs poils courts et à leur peau fine; d'autre part, la surveillance plus étroite et les soins plus assidus dont ils sont l'objet de la part de leurs maîtres rend le mal plus aisé à diagnostiquer.

Fig. 1. — *Carte de la région du bassin Mostiștea* (repr. d'après la *Revue des Progrès thérapeutiques*, n° spéc. : « Paludisme », 1933).

L'enzootie étudiée par nous est localisée dans le village *Polcesti, commune de Sărulesti, département d'Ilfov.* Cette localité est située au milieu de la plaine, sur la rive droite de l'étang et de la rivière Mostiste, au cours lent, dans une région continuellement infestée de moustiques, et à quelques kilomètres de la station de malariologie de Gurbanești (voir carte de la région).

Dans ce village tous les chiens, au nombre de 89, ont été exa-

minés cliniquement et soumis à l'examen microscopique du sang. Parmi eux, 6 avaient été soignés pour filariose et guéris depuis près d'un an. Parmi les 83 chiens non traités antérieurement, 47 avaient des microfilaires dans le sang (donc 56,6 %). Comme les microfilaires n'apparaissent dans le sang que neuf mois après la piqûre du moustique, il convient d'éliminer du calcul les chiens âgés de moins d'une année; cette correction faite, le pourcentage des infections s'élève à 65,51 %. En réalité, cette proportion doit être encore plus élevée, si l'on tient compte du fait que l'examen microscopique du sang n'est pas toujours positif chez les animaux infestés.

Ainsi Nattan-Larrier et Allain ont trouvé, à l'examen direct du sang, une proportion de 47,92 % de chiens infestés; mais après la centrifugation du sang, chez ces mêmes animaux, cette proportion s'est élevée à 86,66 %. Compte tenu de ces considérations et de nos résultats, nous pouvons affirmer qu'à Polcești, presque tous les chiens ayant dépassé l'âge d'un an sont malades de filariose.

En ce qui concerne l'influence du sexe, sur 100 chiens infestés, 14,6 sont femelles et 85,4 sont mâles. En considérant l'âge des chiens, on constate que la proportion des animaux infestés augmente progressivement jusqu'à trois ans, et atteint alors son maximum ; plus tard, ce chiffre se maintient invariable. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Noël Bernard et J. Bauche en Annam, lesquels, sur 300 chiens examinés, n'ont jamais trouvé de microfilaires chez les chiens au-dessous d'un an; les plus gravement infestés étaient toujours au-dessus de trois ans.

Au point de vue de leur race, les chiens de chasse (brack-pointer) ont été trouvés infestés dans la proportion de 77,7 %, les chiens de garde (race commune) ne dépassant point 55 %.

Nous avons constaté également qu'à Mogoșoaia (ferme Baneasa), département d'Ilfov, sur les 9 chiens de la ferme, 5 étaient malades de filariose. Cette ferme est située dans une région impaludée, sur les bords de la lente rivière Colentina, qui, formant de nombreux étangs, est très riche en moustiques.

En dehors de ces deux localités et de la ville de Bucarest, nous avons diagnostiqué et confirmé, par l'examen microscopique, la filariose des chiens dans certaines communes du département d'Ilfov (Greaca, Dudești, Stefănești de jos, Stefănești de sus, Pasarea, Boltaș, Afumatzi), ainsi que dans les départements d'Ialomitza (gare Lehliu et Sarulesti), Muscel (Florica et Tg. Dea-

lului), Argeș (commune de Cerbu), Olt (communes d'Isvoarele et Bălănești), Romanatzi (Brâncoveni, Vartina et Ungureni), Constanza (voir carte de Roumanie).

Nous avons tout lieu de penser que la maladie se rencontre dans tous les départements des bords du Danube, ainsi que dans

Fig. 2. — Les foyers de filariose canine en Roumanie (1933) déterminés par Fr. Popesco.

les endroits riches en eaux courantes et encore plus en eaux stagnantes.

Il serait intéressant de savoir (et nous inclinons à le croire) si, dans ces régions tellement infestées de filariose canine, on pourrait réussir à trouver des microfilaires chez l'homme; d'ailleurs, Neuler cite des cas de filariose humaine en Hongrie. D'un autre côté, Rouffiandis trouve que la filariose est plus fréquente chez l'homme entre vingt et trente ans.

ÉTUDE CLINIQUE DE LA FILARIOSE CHEZ LE CHIEN

La plupart des chiens malades ne présentent pas de symptômes cliniques *caractéristiques*.

La symptomatologie est très variée. Les manifestations cliniques ne s'observent que très tard et sont parfois tellement insignifiantes qu'elles peuvent passer inaperçues. D'ailleurs, à l'autopsie, on trouve souvent des filaires chez des chiens qui,

Fig. 3. — Chien malade de filariose avec lésions cutanées (photo originale).

pendant toute leur vie, n'ont présenté aucun signe clinique de maladie.

Cependant, certains chiens malades sont abattus, sans appétit, affaiblis, dans un état d'anémie prononcée. La maladie évolue lentement sans fièvre et apparaît sous forme d'érythème papuleux, avec rougeur intense de la peau, surtout à la région sternale, avec éruptions cutanées sous forme de nodules ronds, petits, durs et indolores à la palpation, ayant un diamètre de 10-15 millimètres; les poils de ces nodules sont hérissés à la surface; ces lésions cutanées sont localisées surtout dans la région de la tête, des oreilles, de la nuque, etc. D'autres fois apparaissent des vésicules accompagnées d'un œdème très prononcé, et l'animal se gratte violemment tant sur les régions à lésions

cutanées qu'à la surface des côtes où il n'y a pas de lésions cutanées apparentes. Le cortège symptomatique est accompagné de dépilations fines, en quelques points isolés; parfois elles forment de grandes plaques; d'autres fois l'on voit des taches et zones eczémateuses, souvent larges comme la main, se localisant à la base de couche auriculaire, dans la région thoraco-abdominale, à la face interne des pattes et surtout aux aisselles, prenant ainsi l'aspect d'une dermatite scabieuse.

Chez les animaux dont la maladie est plus ancienne, apparaissent des plaques croûteuses en plusieurs endroits, sur le bord libre du pavillon de l'oreille, sur le dos; les genoux présentent parfois des ulcères qui se retrouvent aux coudes, aux jarrets ou sur la face inférieure de l'abdomen; on rencontre aussi l'œdème des membres (obs. XII), les kératites, les otites doubles avec chancre très rebelle au traitement, ayant tendance à détruire partiellement le pavillon des oreilles (obs. XIII). A mesure que les lésions vieillissent, la peau s'épaissit, devient rude et l'on observe alors et en premier lieu, dans la région fessière, des zones de sclérodermie fortement indurées, mais indolores. Plus tard, et progressivement, la sclérodermie peut s'étendre à la région des jarrets, aux coudes ou à l'extrémité des membres.

Finalement surviennent des troubles cardiaques, de la dyspnée, une toux âpre et enrouée, des œdèmes, de l'hydropisie, parfois même des congestions pulmonaires avec hémoptysies; d'autres fois on voit des hémorragies rénales ou intestinales. Ces troubles sont provoqués par quelque thrombus cardiaque ou par une embolie de petits vaisseaux.

Mégnin a observé des cas de filariose avec crises épileptiformes, pouvant avoir une fin mortelle (Earl); on cite les convulsions rabiformes (Fabre); d'autres fois on observe une néphrite avec hématurie; Fröhner cite des douleurs rhumatismales; des paralysies locales font suite quelquefois aux embolies parasitaires cérébrales.

La mort peut être parfois foudroyante à cause de la rupture de l'auricule droit (Schneider et Guitard), mais elle se produit dans la plupart des cas à cause de l'anémie et de la cachexie générales, dues aux embolies parasitaires capillaires des différents organes et de la peau, compliquées d'infections secondaires ayant lieu à la surface de cet organe.

ÉTUDE MORPHOLOGIQUE DU SANG DANS LA FILARIOSE DU CHIEN

En fait de modifications morphologiques principales du sang dans la filariose, on a surtout constaté l'éosinophilie aussi bien chez l'homme que chez les animaux. Chez l'homme, l'éosinophilie paraît être constante, mais la proportion des leucocytes acidophiles varie beaucoup.

En ce qui concerne la filariose avec *Filaria Bancroft*, Bloch donne une proportion de 4,33-4,66 % d'éosinophiles; Lowel, Gulaud (1902), 4,8 et 17 %; Calvert (1902), 6-22 %; Coles (1902), 8,15 et 17 %; Remlinger (1902), 19 et 75 %; Vaquez et Clerc (1902), 10 %; Sicard et Blais (1902), 15 %; Tribondeau (1903), de 3,5-19,5 %; Gullaud, Vaquez et Clerc, Sicard et Blais constatent que les cellules acidophiles sont plus nombreuses au moment où les embryons se trouvent dans la circulation périphérique.

Pour la filariose avec *Filaria Loa*, la proportion d'éosinophiles est beaucoup plus élevée; d'après Wurtz et Clerc (1905), elle est de 53 %; Billet (1905) donne 55 %, et Livon et Penaud (1905), 70 %; Sorrel trouve l'éosinophilie absente dans un cas de *Filaria Loa*, tandis qu'en moyenne la proportion est de 4,6 %.

Nattan-Larrier et Parvu, ainsi que Billet, démontrent que l'éosinophilie sanguine est plus accentuée au moment des poussées œdémateuses.

Divers auteurs signalent également l'existence d'une éosinophilie : Antoine (1910), Weinberg (1908) et Léger (1909), qui trouvent 23 %, 40 % et 61 %; Marchoux (1910), qui note 42,5 %; Billet, qui dans la *Filaria* de Médine trouve 11 %, 25 % et 56 %; Stephens (1905); Jakimoff (1914), qui trouve 9,9 %; F. Noc (1908), qui obtient 12,35 % à 17,15 %; Rousseau, dans ses recherches au Cameroun, constate une éosinophilie très prononcée chez les indigènes; celle-ci pourrait être attribuée aux nématodes intestinaux. Ed. Neuber trouve 12 % d'ésosinophiles dans la *Filaria sanguinis hominis* ; dans Hadjunanans Ungarn, Morenas en a trouvé chez l'homme jusqu'à 50 %; Jakimoff trouve une éosinophilie de 2,4 à 17,2 %; Rodhain, en 1931, affirme avoir trouvé une éosinophilie locale prononcée accompagnant l'éosinophilie générale qui était comprise entre 4 et 35 % dans les 5 cas examinés.

Chez les animaux, A. Billet et Fayet citent 10 chevaux avec filariose ligamenteuse, éosinophilie prononcée (5-28 %) par rapport à la normale (2-6 %, Bidault).

Jakimoff a observé chez 7 chevaux et mulets une éosinophilie parfois très prononcée atteignant 27 %, et ensemble, avec Schokhor et Iwanoff, ils ont trouvé chez le chien avec microfilaires une hyperleucocytose et une éosinophilie allant jusqu'à 26 %, observant aussi des myocytes dans un seul cas.

Motas, en 1903, trouve chez un chien une moyenne de 4.600.000 globules rouges et 200.000 globules blancs, une leucocytose nucléaire, ainsi qu'un très grand nombre d'hématoblastes. Sur des chiens avec microfilaires, Popovici compte de 6.643.750 à 3.000.000 d'hématies et de 12.000 à 64.000 leucocytes; il y trouve également des microcytes et une poïkilocytose. En déterminant hebdomadairement la formule leucocytaire d'un chien (en tout 21 fois), il a constaté une proportion de neutrophiles variant entre 25 et 94 %. En ce qui concerne les éosinophiles, il conclut que leur nombre augmente surtout pendant l'apparition des plaies; il trouve un minimum de 0,5 % et un maximum de 52,32 %, et entre ces limites, les proportions de 2,5, 3, 4, 10, 11, 12,2, 15, 18,5, 21,5 %; les myélocytes éosinophiles étaient nombreux, au maximum 25,5 %. On rencontrait 5 à 40 % de lymphocytes et 2 à 10 % de basophiles. Les grands mononucléaires étaient très rares ou même absents. L'auteur conclut que l'abondance d'éosinophiles serait due au parasite adulte.

Jakimoff et ses collaborateurs, en 1917, dans leur travail, « Microfilaires des animaux au Turkestan russe », trouvent que, parmi les 597 chiens examinés, 61 avaient des microfilaires, donc une proportion de 10,21 % de microfilaires. En examinant leur sang, ils trouvent que chez 4 chiens malades le nombre des érythrocytes varie de 3.520.000 à 7.384.000, et la proportion de Hb de 80, 90 à 100 % ; mais le nombre des leucocytes oscille entre 8545 et 21.539.

La formule leucocytaire des chiens malades examinés se présente comme suit :

Lymphocytes	15,3-26,2 °/₀ (16,6 et 15,7)
Grands mononucléaires	1,7, 3,1, 7,5 °/₀
Formes de passage	2,9, 3,9, 6,7, 9,7 °/₀
Polynucléaires	48,7-70,5 °/₀ (53,4 et 62,6)
Eosinophiles	6,2-22,7 °/₀ (7,7 et 14,3)
Basophiles	0,2- 1 °/₀
Myélocytes	0,9- 8 °/₀ (1 et 1,6)
Leucocytolyse	8 -26,6 °/₀ (10,8)

Hutyra constate, chez les chiens malades de filariose, une anémie simple avec leucocytose prononcée; il cite un cas où le rapport entre les globules rouges et les blancs a été de 1/18.

Nos recherches furent faites sur tous les chiens d'un village infesté. Sur 82 chiens, 45 avaient des microfilaires dans le sang et 37 sans microfilaires.

De ces 37 chiens, 7, n'ayant pas le parasite dans le sang, ne dépassèrent pas l'âge de neuf mois.

La technique employée par nous consiste à compter pour chaque chien 600-1600 leucocytes. Dans un seul cas, il en a été compté 2330 sur les frottis de sang coloré au May-Grünwald-Giemsa.

Les résultats obtenus peuvent se résumer de la manière suivante :

1° Les grands et petits lymphocytes varient de 10 % à 54 %; on y trouve les variations suivantes :

6	fois	entre	10-16 %
21	—	—	16-22
8	—	—	22-28
6	—	—	28-34
4	—	—	34-54

Le nombre total le plus fréquent étant compris entre 16-22 % se rapproche par conséquent des chiffres donnés par Kiebach (21,7 %), comme normaux pour les lymphocytes ; Musser et Krumphaar (122,1 %); Unglert (22,9 %); Toshiotakgi (23 %); Reckzek (jusqu'à 20 %).

2° Les mononucléaires varient comme nombre entre 1 et 7,26 %, chiffre observé une seule fois, la proportion la plus fréquente étant entre 2 et 3 %.

Dans nos cas la proportion trouvée a été :

8	fois	comprise	entre	1 et 2 %
23	—	—	—	2 et 3
9	—	—	—	3 et 4
3	—	—	—	4 et 5

La proportion des mononucléaires est par conséquent assez semblable à celle admise comme normale par Wenke (3 %) et Reckzek (2,5 à 8 %); elle est moindre que les proportions données comme normales par Herrel (6,5 %), Kiebach (8,9 %), Kuhl (8 %), Musser et Krumphaar (6,8 %), Unglert (8,3 %), Toshio et Takagi (11 %, de 10,8 à 34,5 %); elle est plus élevée

que les normales admises par Kohanova (1,2 %), Marek (0 %), Klieneberger et Carl (0,3 %).

3° *Neutrophiles* :

Leur nombre varie entre 33,84 % et 75 % se groupant comme suit :

Chez	2	chiens,	nous avons trouvé	30-40 °/₀	de neutrophiles ;
	3	—	—	40-50	—
	9	—	—	50-60	—
	21	—	—	60-70	—
	10	—	—	70-75	—

par conséquent, comme fréquence, le nombre des neutrophiles est compris entre 60 et 75 %, se rapprochant beaucoup des données normales de la plupart des auteurs.

4° *Eosinophiles* :

La proportion des éosinophiles est comprise entre les limites de 3,8 et 29 %.

Les proportions de 3,83 % et de 29 % n'ont été observées qu'une seule fois.

19	fois	cette proportion	a été trouvée	entre	5-10 °/₀
17	—	—	—	—	10-15
6	—	—	—	—	15-20

On trouve par conséquent, d'une manière constante, une éosinophilie chez les chiens avec filariose, réaction particulière due à l'action des toxines produites dans l'organisme.

La moyenne de la proportion d'éosinophiles a été de 10,95 %, chiffre qui est assez élevé par rapport aux chiffres donnés comme normaux chez les chiens (Kiebach, 1,6 % ; Wenke, 2 % ; Marek, 2,5 %; Dobbertin, 2,5 %; Unglert, 2,8 %; Kohanova, 3,3 %; Klieneberger et Carl, 4,2 % ; Musser et Krumphaar, 5 %).

Remarquons également qu'il n'existe aucun rapport entre la gravité des lésions cutanées, le nombre des microfilaires du sang et le nombre des éosinophiles.

Sabrazès n'admet pas non plus l'existence d'un parallélisme rigoureux entre l'éosinophilie et la marche de la maladie cutanée.

Ajoutons que l'examen coprologique de ces chiens n'ayant pas été fait, nous ne pouvons savoir si les variations du nombre des éosinophiles n'est pas en rapport avec les parasites intestinaux de ces animaux. Nous concluons que, chez les chiens malades de filariose, l'équilibre leucocytaire se trouve modifié. La variation du nombre des éosinophiles n'est en rapport ni avec le degré de

l'infection, ni avec les lésions de la peau, l'âge ou l'état d'anémie des chiens.

5° *Basophiles* :

La plus grande proportion des basophiles, chez les chiens avec microfilaires, a été de 2,07 %. Chez 9 chiens nous n'avons trouvé aucun basophile parmi les leucocytes.

La proportion pour les chiens examinés a été :

Chez	22	chiens.....	0,5 °/₀
	9	—	0,5-1 °/₀
	3	—	1 -1,5 °/₀
	1	—	1,5-2 °/₀
	1	—	2,07 °/₀

D'après Kohanova et Reckzek, il n'existe pas de leucocytes avec granulations basophiles chez les chiens normaux ; elle serait, d'après Klieneberger et Carl, de 0,04 % ; d'après Marek, de 0,2 % ; d'après Dobbertin, de 0,5 % ; d'après Kiebach, de 0,2-0,8 % ; d'après Herrel, Kuhl, Unglert, de 1 %.

Ainsi, chez les chiens malades de filariose, le nombre des leucocytes basophiles est légèrement augmenté.

L'IMAGE D'ARNETH ET L'INDICE NUCLÉAIRE NEUTROPHILE DANS LA FILARIOSE CANINE

Pour compléter l'étude du sang dans la filariose canine, en collaboration avec N. Muntiu, j'ai cherché à établir, pour cette maladie, *l'image d'Arneth et l'indice nucléaire neutrophile.*

Arneth a montré que le sang peut présenter deux aspects ; lorsque le nombre des polynucléaires neutrophiles adultes, ayant trois, quatre, cinq lobulations nucléaires, dépasse ceux qui n'ont qu'un lobule ou deux (déviation à droite) ou lorsque les formes jeunes à un ou deux fragments nucléaires prédominent (image déviée vers la gauche).

Ces modifications dans l'aspect morphologique des leucocytes neutrophiles sont déterminées par la lutte engagée par l'organisme contre une infection, ainsi que par l'établissement d'un certain degré d'immunité.

Dans ce but nous avons cherché à fixer l'image d'Arneth dans

le sang des chiens normaux, jeunes, sans parasites et soumis à un régime alimentaire mixte.

La technique employée par nous a été établie par Arneth, avec les modifications apportées par Dupérié, Axel von Bonsdorff, Sabrazès.

Les résultats obtenus sur 5 chiens normaux sont indiqués dans le tableau I. Il en résulte que le pourcentage des polynucléaires neutrophiles à deux noyaux est très grand, celui des globules à trois noyaux assez élevé, tandis que le pourcentage des formes adultes est très diminué.

TABLEAU I

Chiens normaux.

Chien normal	Polynucléaires neutrophiles (%)					Indice nucléaire neutrophile
	Avec 1 noyau	Avec 2 noyaux	Avec 3 noyaux	Avec 4 noyaux	Avec 5 noyaux	
A.....	2,77	30,01	46,30	16,60	3,24	286
B.....	6,77	41,40	43 »	6.77	1.78	254
C.....	14 60	46.20	30 »	5,88	0,32	222
D.....	9,40	45 »	35,40	8.60	1,60	248
E.....	10,82	40,47	36.05	8,84	3,72	254

En établissant l'image d'Arneth pour les chiens normaux, nous avons cherché celle des chiens avec filariose, afin de nous rendre compte s'il existe dans cette maladie des modifications, dans le nombre des lobules nucléaires, pouvant donner un caractère particulier à l'image d'Arneth, ce qui pourrait compléter le diagnostic hématologique.

Dans ce but nous avons examiné 13 cas de filariose canine dans différentes phases cliniques de cette maladie.

Les résultats de cet examen sont résumés dans le tableau II, d'où il résulte que *l'image d'Arneth dévie nettement vers la droite.*

TABLEAU II

Chiens avec filaires.

Chien n°	Polynucléaires neutrophiles (%)					Indice nucléaire neutrophile
	à 1 noyau	à 2 noyaux	à 3 noyaux	à 4 noyaux	à 5 noyaux	
61	2	12	31	38	17	356
62	4	8	36	40	12	348
68	2	9	27	36	26	375
71	2	11	32	35	20	360
72	2	10	27	28	33	352
75	2	12	34	32	20	356
76	2	10	31	35	23	380
77	3	10	33	31	23	361
78	4	19	30	31	16	336
79	3	12	23	33	29	373
80	2	9	33	35	21	364
83	4	18	29	31	18	341
84	4	13	26	37	20	356

INDICE NUCLÉAIRE NEUTROPHILE

En rapport avec l'image d'Arneth, nous avons essayé d'établir également l'indice nucléaire neutrophile, tant sur les 5 chiens normaux que sur 13 animaux avec filariose.

L'indice nucléaire neutrophile est le total des fragments des noyaux, qui s'obtient pour 100 neutrophiles disposés selon l'image d'Arneth.

La moyenne de cet indice, chez les chiens normaux, a été de 253, tandis que chez ceux avec filariose, elle fut beaucoup plus élevée, variant entre 336 et 380.

Par conséquent, dans la filariose canine, l'image d'Arneth est nettement déviée vers la droite, et l'indice nucléaire neutrophile plus élevé qu'à l'état normal.

DIAGNOSTIC CLINIQUE DANS LA FILARIOSE DU CHIEN

Le diagnostic clinique de la filariose canine est assez difficile à faire, car les symptômes sont variés et imprécis. La maladie, dans ses divers aspects cliniques, peut être confondue avec certaines affections cutanées, avec des maladies parasitaires et

même avec certaines maladies générales, la filariose évoluant presque toujours lentement et sans fièvre.

Le diagnostic s'établit aisément lorsqu'on a été prévenu que l'animal malade habite ou provient d'une région infestée de filariose ou d'une région reconnue comme impaludée. L'examen microscopique direct du sang établit avec précision l'existence de la maladie. On prend une goutte de sang périphérique, on l'examine entre lame et lamelle (0 c. 5 × Ob. 8 Zeiss, diaphragme légèrement fermé). Les microfilaires se distinguent facilement à leurs mouvements caractéristiques, s'avançant parmi les hématies. C'est vers la périphérie de la lame qu'ils se trouvent en plus grand nombre. Noc a compté de 1 à 3 microfilaires sur une lame; Jean Livon et Pénaud, jusqu'à 20. Nous en avons trouvé 300-350 chez les chiens fortement infectés, une fois nous avons pu compter 750 individus sur une seule lame et nous avons trouvé jusqu'à 28 parasites dans un seul champ microscopique.

Parfois, au premier examen, on ne voit pas de microfilaires dans le sang, mais on en trouve si on fait des examens répétés pendant plusieurs jours de suite; il est établi que l'examen quotidien d'un animal malade de filariose n'est pas positif chaque jour. Ceci est vrai pour la filariose de l'homme chez qui il existerait une filaire nocturne et une diurne. C'est pourquoi, lorsque Mathis et Léger ont essayé d'établir la distribution géographique de la filariose humaine en Indochine du Nord, et qu'ils ont examiné dans ce but le sang de 3000 personnes, il leur a suffi de pratiquer une seule préparation pour chaque cas, mais à la condition de faire la récolte du sang vers minuit. Livon pratiquait ses examens aussi bien le jour que la nuit. Kosuge affirme que chez le chien il existe, dans la *Dirofilaria immitis*, une périodicité avec un minimum entre 6 et 10 heures du matin, et un maximum le soir aux mêmes heures. Cette périodicité n'est pas aussi précise que pour la *Filaria diurne*; cependant il a constaté que chez le même animal les valeurs maxima varient à des heures fixes.

Dans nos recherches, nous avons toujours trouvé des microfilaires dans la circulation veineuse, sans observer des oscillations ou des absences indiquant une périodicité.

Nous nous sommes bornés en général à examiner seulement le sang veineux, car nous avons constaté que la numération directe des microfilaires dans le sang veineux et dans le sang artériel donne le même résultat (fait remarqué par Kosuge).

Si à l'examen direct du sang frais on ne trouve pas de microfilaires, on répète l'examen ou bien on le pratique après centrifugation simple ou répétée du sang. Chez l'homme, Nattan-Larrier et Allain ont trouvé à l'examen direct du sang un pourcentage de 47,92 d'infestés, tandis que par centrifugation le pourcentage s'élève à 86,66.

La mise en évidence des microfilaires peut s'effectuer également par l'examen du sédiment qui résulte de la centrifugation de l'urine, comme par l'examen microscopique du raclage des pustules ou des plaies cutanées.

DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE DE LA FILARIOSE CANINE

Dans ces derniers temps, on a essayé différentes méthodes sérologiques pour le diagnostic de la filariose, sans obtenir le résultat pratique que donnent ces méthodes dans le diagnostic des autres maladies parasitaires.

Parmi ces méthodes, celle de la déviation du complément a été spécialement employée pour le diagnostic sérologique de la filariose, mais l'on n'a obtenu qu'une réaction de groupe, analogue comme valeur diagnostique à celle obtenue pour la schistosomiase.

MÉTHODE GATÉ-PAPACOSTAS

Nous avons essayé d'établir la valeur de la méthode formol-gélification au point de vue du diagnostic et de la spécificité de cette méthode. D'autres auteurs ont essayé cette réaction chez les chiens (tuberculose, maladie du jeune âge, pyroplasmoses, affections pulmonaires, téniases), dans lesquelles on a parfois obtenu des réactions positives jusqu'à 28 %, vis-à-vis du sérum des chiens normaux, qui ne gélifient pas le sérum en présence du formol avant 40 à 48 heures (Armanqué et Gonzalès).

Nous avons essayé cette réaction avec le sérum de 78 chiens malades de filariose, d'après la technique suivante :

Dans des tubes (pour réaction Wassermann) stérilisés on met 1 centimètre cube de sérum frais de chien, parfaitement clair, sans globules rouges. Pour chaque épreuve on utilise 2 tubes. Dans le premier tube on met une goutte de formol et dans le second 2 gouttes. On agite les tubes (sans former cependant des

bulles d'air), on les garde non bouchés à l'étuve à 37° pendant 14 heures, après cela pendant 10 heures à la température de la chambre; la lecture se fait au bout de 24 heures. Avec cette technique, la réaction formol-gélification chez les 78 chiens à filariose a été positive dans 22,7 % des cas; dans 8 % la réaction a été douteuse, et dans 59 % des cas, négative. On considère comme positifs les sérums qui forment en 24 heures un gel dur, d'aspect nettement opalescent; sont considérés comme douteux ceux dont le gel est plus mou, sans opalescence.

Il résulte de nos recherches que la formol-gélification, dans cette maladie, n'est pas une méthode ayant une valeur diagnostique.

L'intradermo-réaction avec antigène de *Dirofilaria immitis,* employée par d'autres auteurs comme méthode de diagnostic, n'a donné que des réactions sans aucune importance au point de vue pratique en ce qui concerne les chiens.

Par conséquent, entre les méthodes de laboratoire, *la seule méthode précise de diagnostic de la filariose consiste seulement dans l'examen microscopique du sang, directement ou après centrifugation.*

TRAITEMENT DE LA FILARIOSE

Beaucoup de substances médicamenteuses ont été employées dans le traitement de la filariose, mais aucune n'a montré une action thérapeutique assez efficace, pour qu'on puisse la considérer comme spécifique.

L'essence de térébenthine, très recommandée, donne des résultats faibles ou nuls. L'atoxyl préconisé par Dorn, en quantité de 0,05-0,10 gr., fut trouvé par Hansen comme ayant une action passagère tant chez l'homme que chez le chien, diminuant parfois seulement le nombre des microfilaires. Les arsenicaux, le néosalvarsan, le cacodylate de soude (0,1-0,3 gr. sous-cutané) ont une action analogue. Le stovarsol et le néostibosan sont tout à fait inactifs (Fr. Popesco).

Les lésions cutanées sont traitées avec des anti-parasitaires; contre le prurit on emploie différents calmants. Ce traitement a une certaine action seulement dans des cas chroniques sans troubles importants de circulation et de nutrition (Janson). Tiroux obtient chez l'homme une amélioration de l'état général, ainsi que la disparition des microfilaires de la circulation en

employant l'émétique d'aniline, les microfilaires ne disparaissent point si l'on examine le culot après centrifugation. Il a obtenu le même résultat dans le traitement d'un chien malade de filariose. En même temps que le traitement médicamenteux, Hutyra recommande la suralimentation, le repos et l'isolement de l'animal.

Jusqu'à nos jours, les traitements recommandés dans la filariose humaine se sont montrés plus ou moins inefficaces, ainsi : l'amino-arséno-phénol (l'éparséno) (Pomaret); l'arséno-benzol (Jeanselme, Montpellier et Ardoin, Ch. Grey, Balfour, etc.); le vert de malachite (Tiroux); le sulfarsénobenzène (Hermann et Genevray) ; le novarsénobenzène (Jeanselme); l'hectine (L. Tanon et Giraud); l'arséminol (salvarsan japonais) (Ikegani) ; la quinine, le bismuth, le néosalvarsan, le stybal (Morenas); l'émétique et le kermes seuls ou associés, en injections intra-veineuses (Fournier); le chlorhydrate d'émétine et l'iodure double de quinine et bismuth (Photinos); le perchlorure de fer (Dubruel); la fibrolysine Merck (Castellani); le *Tartarus stibiatus* (Mc Donach-Christopherson) ; tous ont donné des résultats très peu satisfaisants.

En dehors d'autres substances, différents expérimentateurs ont essayé récemment, sur une vaste échelle, les dérivés de l'antimoine. L'émétique fut expérimenté par Gaspar Viana, Artomonov, Di Cristiana et Caronia, Jemma, Nicolle, Rogers, Muir, Knowles, Macfie; la stybényl par Caronia, L.-B. Napier, J. Renault, Monier-Vinard et Gendron. L'urée stibamine (stibamine et le sel de sodium de l'acide p. amino-phényl-antimonique), de Poster, Napier, Brahmachari, Nibaran, Chandra, Mitra, Amiukl, Chandra Chaterjee, Kundu, Saroda, Charan Chanhury, Judhistir, Das, Shortt, Ram-Taran Sen ; le Heyden 471 (stibosan-métachlore-paracétyl-aminophényl-stibinate de sodium); le Heyden 661 (antimosan), qui contiennent l'antimoine trivalent, sont considérés comme les plus actifs.

Tsykalas, en 1929, démontre que l'émétine est supérieure à toutes les préparations connues dans le traitement des schistomicides; dans la bilharziose, sa supériorité a été constatée par Fairley (1926), Kawamura, Kazana, Takana (1924), Gordon (1926), Tsyklas (1921).

Bos confirme l'efficacité de l'antimoine dans le traitement de la trypanosomiase expérimentale (surra) chez les petits animaux d'expérience (1931).

Velu, Zottner et Ipoustegny, essaient le traitement par l'an-

timoine dans la theilériose bovine nord-africaine; il fut employé par P.-J. de Toit, Parkin, H.-E. Henby, et Bailley, Freund, dans le traitement des différentes formes cliniques de nagana chez le cheval.

Cébé (1932) a essayé l'action curative de certains composés organiques d'antimoine (l'antimoine trithioglycolamide et l'antimoine thiosalicylate de sodium dans la surra expérimentale).

Lanoy, P. Nicolle et M^lle^ M. Prieur, ont obtenu de bons résultats avec l'antimoine thioglycolate de sodium, antimoine thrithioglycolamide, antimoine thyosalicylate de sodium, l'émétique de sodium, chez les animaux infectés expérimentalement avec du try-congolense. Les composés pentavalents comme l'acétylpamino-phényl stibinate de sodium agissent seulement à la dose de 0,004 gr.

M. Léger et P. Queinnec, employant le synthol dans le traitement de la filariose Loa, obtiennent seulement la disparition des œdèmes et du prurit, sans aucune action sur les embryons de la circulation.

Il résulte d'une manière évidente, des recherches faites récemment, que les sels d'antimoine viennent en premier lieu en ce qui concerne leur action thérapeutique dans les maladies parasitaires du sang, ces sels étant en même temps beaucoup moins toxiques.

Ces sels se sont montrés très actifs dans la syphilis expérimentale des lapins, lorsqu'on employait spécialement le stybényl (l'acide acétyl-amino-phényl stibié de sodium et le stibosan) (m. chlor. p. acétyl-amino-phényl stibiés de sodium); dans les deux cas l'antimoine est combiné sous forme pentavalente. Le stybényl fut utilisé dans le traitement des léromes (Archibald, 1921), dans la trypanosomiase humaine (Van den Branden et Van Hoop [1922]), dans le kala-azar (Brahmachari, R. Catala [1924]). Klippel et Monier; Renault, Monier-Vinard et Gendron, citent un cas de kala-azar complètement guéri par le stybényl. Il résulte clairement que les composés stibiés pentavalents, tel le néostibosan, sont des substances très actives pour le traitement du kala-azar. Nous appuyant sur ces données, nous avons fait une série d'expériences pour le traitement des chiens malades de filariose, en employant le néostibosan (693 Bayer-Meister-Lucius) (p. l'amino-phényl stibié de diéthylamine) qui contient près de 42 parties d'antimoine %.

Il résulte de nos expériences faites sur 4 chiens malades que cette substance n'a aucune action *in vivo* sur les microfilaires du sang.

En 1929, H. Schmiedt démontre la supériorité des composés trivalents stibiés (Fouadine) sur les composés pentavalents, en ce qui concerne leur efficacité. Ces composés furent expérimentés spécialement dans le traitement de la schistosomiase humaine, et avec de très bons résultats, en 1931, par Kalil, Schmiedt, Hammouda et Weese, qui démontrèrent la spécificité de ces substances dans la schistosomiase. D'autre part, Mazza et Aranda les ont essayés avec succès dans la leishmaniose américaine.

Uhlenhut avait raison lorsqu'il affirmait que, par la synthèse de sels complexes d'antimoine trivalent, on arriverait à un dérivé antimonié de la série aromatique de la catéchine. Celui-ci serait plus rapproché du tartre stibié que le stybényl et le stibosan, tant en ce qui concerne la manière dont est combiné l'antimoine qu'en ce qui regarde sa valeur thérapeutique, car il possède une action puissante trypanocide et une toxicité relativement insignifiante, stérilisant complètement en trois à quatre heures des souris infectées avec des trypanosomes, tandis que le stybényl et le stibosan n'en guérissent qu'une partie et en un intervalle de un à trois jours.

*
**

Forts de ces résultats, nous avons commencé en 1931 une série d'expériences pour le traitement de la filariose canine, en employant la Fouadine, étant donné son action puissante parasitotrope, le peu de toxicité de ce sel et le fait qu'en injection intra-musculaire, il est très bien supporté, étant indolore.

La Fouadine (néo-antimosan) est une solution de 6,3 % d'antimoine III pyrocatéchine-disulfonate de sodium.

Cette substance contient 13,5 % d'antimoine trivalent, par conséquent 1 centimètre cube de Fouadine équivaut à 0,0085 gr. de Sb. III.

La Fouadine, d'après Khalil, donne dans le kala-azar 97,6 % de guérisons, tandis que le tartre stibié n'en compte que 67,2 %. De plus, étant donné la haute concentration de la Fouadine, celle-ci peut être employée en petites doses, en injections espacées. L'action thérapeutique de la Fouadine continue encore à s'exercer une fois la série d'injection terminée, si bien qu'on ne peut juger du résultat de la cure que deux à quatre semaines plus tard.

Les injections intra-musculaires de Fouadine sont indolores,

la résorption est plus lente par rapport à ce qui se passe pour l'injection intra-veineuse; elle permet d'éviter les phénomènes de choc qui surviennent parfois après cette dernière.

Chez les femmes débilitées, on a parfois constaté de légers vomissements qui ne se produisaient qu'après la première injection.

En général, 9 à 10 injections sont nécessaires pour guérir complètement la bilharziose vésicale ou intestinale.

D'après KHALIL, les doses employées chez un adulte de plus de 60 kilogrammes sont les suivantes : première injection, 1,5 cc.; deuxième injection, 3,5 cc.; troisième injection, 5 cc.

Pour les femmes : 13 et 4,5 cc. Les enfants tolèrent des doses relativement plus élevées que les adultes, proportionnellement à leur poids; on se basera généralement sur ce dernier. La dose maxima de Fouadine sera 1 cc. par 10 kilogrammes de poids.

ESSAIS POUR LA DÉTERMINATION DE LA DOSE DE FOUADINE CHEZ LE CHIEN

Avant d'expérimenter la valeur thérapeutique de cette substance, nous avons fait une série d'essais, afin d'établir quelle est la dose toxique de Fouadine par kilogramme de poids vif, tant chez les chiens normaux que chez ceux malades de filariose.

La substance étant toujours administrée par voie intra-veineuse, nous avons constaté que la dose toxique varie entre des limites assez larges, qu'elle est fonction de l'âge, de l'entretien de l'animal et de l'état de ses reins. D'un autre côté, si l'on pratique des injections en série, la Fouadine, qui s'élimine difficilement, s'accumule et, si la dose thérapeutique n'est pas diminuée, elle peut donner lieu à des accidents toxiques.

A. — Observations faites pour déterminer la dose toxique de Fouadine chez les chiens normaux.

Ces expériences ont été pratiquées sur 4 chiens normaux de race Spitz, âgés de 2 à 3 ans; poids 6-7 kilogrammes. Les injections intra-veineuses ont été faites en une fois.

OBSERVATION I. — *Le chien n° 3* (poids : 6,300 kgs.) supporte très bien la dose de 0,23 cc. de Fouadine par kilogramme de poids vif, sans réaction thermique ni organique appréciable.

Observation II. — *Le chien n° 4* (poids : 6,700 kgs.) reçoit une injection de 0,52 cc. de Fouadine par kilogramme de poids vif, qui est très bien supportée. Aucune réaction thermique ou organique appréciable.

Observation III. — *Le chien n° 103* (poids : 6,700 kgs.) reçoit une injection de 0,74 cc. de Fouadine par kilogramme de poids vif, très bien supportée; il présente une légère réaction thermique passagère.

Observation IV. — *Le chien n° 101* (poids : 6 kilogrammes, reçoit 0,83 cc. de Fouadine par kilogramme de poids vif; l'animal meurt intoxiqué 17 heures après.

A l'autopsie de ce dernier. on trouve une forte congestion du tissu conjonctif sous-cutané accompagnée de vaso-dilatation générale. Les vaisseaux sont remplis de sang asphyxique, hémolysé, faiblement coagulé dans le cœur et les grands vaisseaux. On observe des suffusions sanguines sous forme de petits points à la surface du péricarde, ainsi qu'une congestion pulmonaire.

On peut conclure que la Fouadine, administrée par voie intraveineuse en une seule fois à des chiens normaux, et ne dépassant pas la dose de 0,52 cc. par kilogramme de poids vif, est supportée sans aucune réaction organique appréciable ; la dose de 0,74 cc. de Fouadine par kilogramme de poids vif est supportée par l'organisme avec une légère réaction thermique passagère, tandis que la dose de 0,83 cc. produit une intoxication mortelle.

B. — **Observations pour la détermination de la dose toxique de Fouadine chez les chiens malades de filariose.**

Désirant savoir si la dose toxique de Fouadine est la même pour les chiens malades de filariose et pour les chiens normaux, nous avons cherché à établir par quelques expériences la dose toxique par kilogramme de poids vif chez les chiens malades de filariose, dans les conditions suivantes.

a) Une seule injection de Fouadine ;

b) Deux injections intra-veineusees de Fouadine à différents intervalles ;

c) Deux injections, dont la première intra-veineuse et la seconde intra-musculaire.

Nous donnons ci-dessous les protocoles de ces expériences :

a) Observation I. — *Chienne n° 108* (poids : 27,800 kgs.), bien entretenue. Injection de 0,24 cc. de Fouadine par kilo-

gramme de poids vif; l'animal supporte très bien l'injection sans aucune réaction thermique ou organique.

b) Observation I. — *Chienne n° 107* (poids : 20 kilogrammes), très bien entretenue. Injectée par voie intra-veineuse avec une dose totale de 0,58 cc. de Fouadine par kilogramme, en 2 injections faites à des intervalles de 24 heures. La première était de 0,25 cc., la deuxième de 0,33 cc. de Fouadine par kilogramme de poids vif. Dans ces conditions, l'animal a supporté la quantité totale de 0,58 cc. de Fouadine par kilogramme sans réaction thermique ou organique.

b²) Observation II. — *Chien n° 105* (poids : 15,700 kgs.), vieux, malade cachectique. Injection intra-veineuse d'une dose totale de 0,64 cc. par kilogramme, en 2 injections égales dans l'intervalle de 24 heures. L'animal présente des phénomènes d'intoxication et meurt 40 heures après la deuxième injection.

A l'autopsie on constate une congestion pulmonaire avec quelques petits foyers de broncho-pneumonie, une dégénérescence graisseuse du foie, une mégalosplénie, de la néphrite chronique atrophique, une gastrite avec suffusions hémorragiques, de l'entérite hémorragique avec des lésions plus étendues sur la portion terminale de l'intestin.

b³) Observation I. — *Chienne n° 29* (poids : 14,200 kgs.). Injectée avec 0,65 cc. de Fouadine par voie intra-veineuse, en 2 injections à 3 jours d'intervalle. La première injection a été de 0,24 cc., la deuxième de 0,41 cc. de Fouadine par kilogramme de poids vif. L'animal présente des phénomènes toxiques et meurt après 6 jours.

A l'autopsie, on trouve du sang asphyxique légèrement coagulé et hémolysé, de la vaso-dilatation générale, plus intense dans les vaisseaux du mésentère et de l'épiploon, de la congestion et de la dégénérescence graisseuse du foie et des reins.

c) Observation I. — *Chienne n° 104* (poids : 19,900 kgs.). Injections de 0,55 cc. de Fouadine par kilogramme de poids vif : l'une de 0,40 cc. par voie intra-veineuse, l'autre de 0,15 cc. par voie intra-musculaire. Après l'injection l'animal présente des phénomènes graves d'intoxication aiguë et meurt 36 heures après.

A l'autopsie on constate l'œdème du museau et de la cavité nasale, la cyanose et l'œdème des autres muqueuses, l'hyperhémie du tissu conjonctif sous-cutané, avec vaso-dilatation

générale. Le sang est asphyxique, non coagulé. Le poumon gauche est congestionné, on voit des taches hémorragiques sous-péricardiques aux environs des vaisseaux coronaires; on constate de la congestion et de la dégénérescence du foie, de la mégalosplénie, une néphrite hémorragique.

Il résulte de ces expériences que les chiens malades de filariose supportent très bien une dose de 0,24 cc. de Fouadine par kilogramme de poids vif, par injection intra-veineuse; les jeunes chiens, en bon état physiologique, peuvent supporter une seule injection de 0,33 cc. de Fouadine par kilogramme de poids vif, et en injections répétées, s'échelonnant sur 24 ou 72 heures, une quantité totale de 0,58, 0,64, 0,65 ou même 0,75 cc. Lorsque la deuxième dose est injectée par voie intra-musculaire, la Fouadine produit des phénomènes d'intoxication aiguë mortelle. De ces expériences comparatives, il résulte qu'en général les chiens normaux ont, pour la Fouadine injectée par voie intra-veineuse, une tolérance 2 et 3 fois plus grande que les chiens malades de filariose.

RECHERCHES POUR ÉTABLIR L'ACTION « IN VITRO » DE LA FOUADINE SUR LES MICROFILAIRES

Afin d'étudier l'action *in vitro* de la Fouadine sur les microfilaires, nous avons mis en contact direct différentes quantités de sang citraté provenant de chiens fortement infestés de microfilaires, avec de la Fouadine et en même temps avec un témoin de solution physiologique.

On porte le mélange stérile dans des tubes à hémolyse que l'on bouche avec du coton et que l'on garde à 37° pendant 24 heures; le mélange est examiné à différents intervalles. Pour ces recherches nous avons employé deux procédés.

Dans la première série d'expériences, la quantité de sang était constante et l'on faisait varier la quantité de Fouadine; dans la deuxième série d'expériences, c'est la quantité de Fouadine qui était constante, mais on variait la quantité de sang avec filaires.

Nous avons d'abord recherché l'action qu'exerce *in vitro* le citrate de soude en solution à 1 % sur les microfilaires du sang. Nous avons constaté qu'il n'a aucune influence (même après 25 heures) pour un mélange fait de 5 parties de citrate de soude à 1 % pour une partie de sang.

A. — Dans les expériences qui vont être décrites, tout d'abord la quantité de sang reste constante et celle de la Fouadine varie.

a) En mélangeant une partie de sang avec 2 parties de Fouadine (1 : 2) on constate, au bout d'une heure, que les microfilaires sont encore vivantes, mais ont des mouvements très lents et ne peuvent plus circuler parmi les hématies. Après 25 heures, dans toute la quantité de sang, nous n'avons pu retrouver que 7 microfilaires mortes, les autres ayant été lysées.

b) En mélangeant une partie de sang avec 4 parties de Fouadine (1 : 4), après une heure, les microfilaires commencent à mourir successivement et sont toutes mortes 75 minutes plus tard.

c) Dans un mélange d'une partie de sang et 9 parties de Fouadine (1 : 9), toutes les microfilaires sont mortes après 75 minutes.

B. — Dans les expériences suivantes, c'est la quantité de sang qui varie, la Fouadine restant constante.

Les résultats obtenus sont les suivants :

a) En mélangeant 2 parties de sang à une partie de Fouadine (2 : 1), après 70 minutes, on trouve encore dans une préparation 3 microfilaires assez vives et deux avec des mouvements lents.

b) En mélangeant 4 parties de sang et 1 partie de Fouadine (4 : 1), après 80 minutes, on note 17 microfilaires toutes vivantes.

c) Dans le mélange de 9 parties de sang et 1 partie de Fouadine (9 : 1), après 80 minutes, toutes les microfilaires sont vivantes avec des mouvements très vifs.

Dans un seul cas, nous avons observé que les microfilaires récoltées sur le même animal ont survécu pendant 24 heures dans de la Fouadine pure; que in vivo, *en dehors de l'action directe de la substance sur le parasite, il se produit aussi une modification du chimisme de l'animal parasité, qui rend impossible l'existence des microfilaires.*

Il résulte de ces recherches qu'en général, *in vitro,* la Fouadine possède une action toxique assez active sur les microfilaires et qu'après un court intervalle, après sa mort, le parasite est lysé.

TRAITEMENT DE LA FILARIOSE CANINE PAR LA FOUADINE.

Première série de recherches.

Dans la première série de recherches, le traitement par la Fouadine a été appliqué dans les conditions recommandées pour le traitement du kala-azar, c'est-à-dire par des injections intramusculaires et à doses progressives à partir de 0,25 cc. (dose minima), jusqu'à 1 centimètre cube (dose maxima), pour chaque 10 kilogrammes d'animal.

C'est selon ce procédé que nous avons traité 2 chiens (n°s 1 et 2) présentant de nombreuses microfilaires dans le sang, ainsi que des lésions cliniques caractéristiques.

Observation I. — *Chien n° 1*, mâle, âgé de 3 ans 1/2, croisement brack-pointer (pesant 25,600 kgs.), bien entretenu, originaire de Polcești-Ilfov.

Observation II. — *Chien n° 2*, mâle, âgé de 5 ans, croisement brack-pointer (pesant 23,300 kgs.), bien entretenu, originaire de la même localité.

Avant de commencer le traitement médicamenteux, les deux chiens ont pris 4 bains chauds à la créoline à 1 %, ont subi des brossages, ont été soumis à un régime alimentaire abondant.

Le traitement, commencé le 23 novembre, est identique pour les 2 chiens, c'est-à-dire : 0,75 cc. de Fouadine le 23 novembre 1931, 1,5 cc. le 24 novembre, et 2,5 cc. le 25 novembre.

Les injections furent bien supportées par l'organisme. Après ce traitement les microfilaires n'ayant pas disparu du sang, on recommença le traitement au bout de 48 heures et on fit à chaque animal 5 injections intra-veineuses de Fouadine espacées entre elles de 48 heures, savoir : 2,5 cc. pour la première injection, 3,5 cc. pour les deuxième et troisième injections, et 5 centimètres cubes pour les quatrième et cinquième injections. Le médicament fut bien toléré, sans influencer l'état général de l'organisme. A la dernière injection, les deux chiens présentèrent brusquement des phénomènes d'intolérance : le premier animal devint triste et sans appétit; mais après 3 jours, il revint à l'état normal pendant que le nombre des microfilaires de la circulation générale avait diminué sensiblement.

Le second chien lui aussi devint triste et sans appétit, la fièvre s'éleva à 39°8, la muqueuse oculaire fut congestionnée, on trouva un catarrhe bronchique et des traces d'albumine dans l'urine; de l'hyperesthésie lombaire, de la contracture musculaire généralisée et permanente, une légère parésie du train postérieur. Les symptômes cliniques se succédèrent et persistèrent pendant 6 jours. Tout à coup la température revient à la normale et les symptômes cliniques s'amendèrent l'un après l'autre, jusqu'à rétablissement complet.

Chez cet animal les microfilaires disparurent complètement de la circulation une demi-heure après la dernière injection de Fouadine.

Le contrôle microscopique du sang de ces deux chiens a été fait journellement pendant les deux premiers mois, en examinant le sang frais directement et après centrifugation. Ensuite ce contrôle a été fait de temps en temps pendant une année. Chaque fois le résultat fut négatif.

En résumé : de 2 chiens malades de filariose, qui ont reçu 4,75 cc. de Fouadine par voie intra-musculaire et 19,5 cc. par voie intra-veineuse, le total en 8 injections : l'un n'a pas guéri ; l'autre a complètement guéri, mais il a présenté des phénomènes sérieux d'intolérance.

Deuxième série d'expériences.

Pendant les expériences faites pour déterminer la dose toxique, nous avons observé que la Fouadine par voie intra-veineuse est mieux supportée par les chiens en doses assez fortes. Dans la première série de recherches relatives à son action curative dans la filariose, nous avons observé que la guérison ne s'obtient que dans les cas où l'animal malade soumis au traitement a présenté des symptômes d'intolérance.

C'est pourquoi, dans les recherches ultérieures, nous avons modifié la technique du traitement de telle sorte que l'organisme des animaux malades soumis au traitement à la Fouadine soit maintenu pendant quelques jours sous l'action des doses maxima tolérées par l'organisme. Dans ce but, les animaux en traitement furent soumis par voie intra-veineuse à des doses massives, d'abord journellement, ensuite à de courts intervalles, jusqu'à l'apparition des symptômes d'intolérance, lorsqu'on arrêta le traitement.

Le même principe fut d'ailleurs appliqué par le professeur A. Ciuca pour le traitement de la dourine chez les chevaux, en obtenant la stérilisation complète, alors que l'organisme de l'animal malade de dourine était maintenu sous l'action du néosalvarsan pendant 48 heures, par 2 injections intra-veineuses sous-toxiques appliquées à des intervalles de 24 heures.

Par ce procédé, en injectant des quantités selon le degré de tolérance de l'organisme, nous avons obtenu des stérilisations complètes chez tous les chiens malades de filariose et ainsi traités.

TECHNIQUE DU TRAITEMENT

Les animaux malades furent injectés dans la veine saphène externe ou dans l'auriculaire marginale, les 3 premiers jours, et reçurent des doses variant de 2 à 5 centimètres cubes de Fouadine. Les jours suivants on répéta les injections chaque 48 heures, en continuant avec la dernière dose (maxima) jusqu'à l'apparition des phénomènes d'intolérance, quand le traitement fut interrompu.

Pendant le traitement, les animaux étaient surveillés au point de vue clinique (analyses de l'urine) et on pratiquait un contrôle quotidien du sang frais, au point de vue parasitaire.

Dans les 19 observations ci-dessous, on indique le mode d'injection et les doses utilisées, ainsi que les résultats obtenus :

Observation I. — *Chien n° 1,* non guéri pendant les premiers essais de traitement (obs. I de la première série d'expériences) (pesant 28,900 kgs.). Le 1er jour, l'animal reçoit en injection intra-veineuse 5 centimètres cubes de Fouadine ; le lendemain, 6,5 cc. Après la seconde injection on constate de la fièvre, des tremblements musculaires, de la congestion des muqueuses, une orchite double. Le nombre des microfilaires diminue de 14 à 4 par frottis. Les 5^{e} et 7^{e} jours, nouvelles injections de 5 centimètres cubes. Après cette dernière injection apparaissent de nouveau des manifestations d'intolérance avec fièvre (40°5), qui cèdent toutes après 3 jours de traitement symptomatique. Les microfilaires ont disparu de la circulation une heure après la dernière injection; malgré cela, comme l'animal avait résisté au premier traitement, afin que la stérilisation soit certaine, l'animal reçoit en plus, les 11^{e} et 13^{e} jours, 3,5 cc. de Fouadine ; les 16^{e} et 17^{e} jours, il en reçoit encore 5 centimètres cubes.

L'animal a très bien supporté le traitement et, bien qu'il ait perdu 3 kilogrammes, il a guéri.

Pendant un mois on a fait journellement le contrôle microscopique du sang, puis à de courts intervalles, pendant encore 10 mois; le résultat a toujours été négatif. L'animal est guéri.

10 mois plus tard, l'animal est mort de rage; à l'autopsie on n'a trouvé aucune forme adulte de parasite.

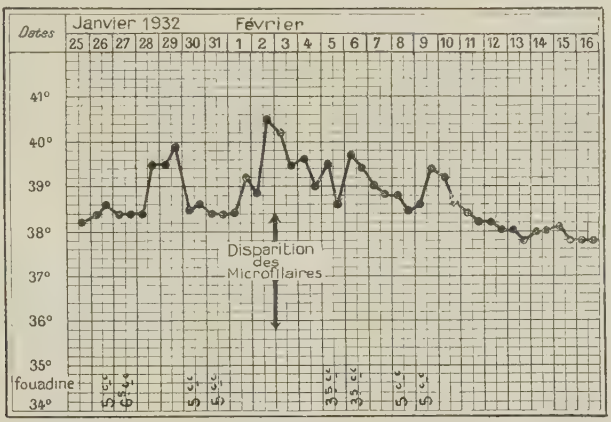


Fig. 4. — Observation I. Chien n° 1.

Observation II. — *Chien n° 5,* pointer, 5 ans (26,300 kgs.). On trouve des microfilaires dans le sang et des manifestations cliniques évidentes de filariose (dépilation, sclérodermie, prurit).

Les premiers 3 jours on administre, par voie intra-veineuse, 3,5, 5, et 6 centimètres cubes de Fouadine.

Après la seconde injection, le nombre des parasites dans le sang a diminué; le 4e jour, leur nombre a augmenté (de 7 à 50), mais les lésions cutanées ont été améliorées.

Le 5e jour, on injecte 5 centimètres cubes, le chien est triste, légère congestion des muqueuses oculaires, il se remet après 72 heures. Les 8e et 10e jours, on fait 5 centimètres cubes; le 11e jour, 3,5 cc.; les 13e, 14e et 16e jours, 5 centimètres cubes de Fouadine. Le poids a diminué de 3,300 kgs.

Les microfilaires disparaissent du sang le 5e jour du traitement.

L'examen du sang est pratiqué par centrifugation, journelle-

ment pendant les 4 premiers mois du traitement, puis toutes les semaines ultérieurement et cela sans trouver de microfilaires. L'animal est guéri.

Observation III. — *Chien n° 6,* de garde, 14 ans (15,700 kgs.), appartenant à M^me^ colonel P...; l'animal est cachectique, il a de la gale sarcoptique et une dermite papuleuse grave, accompagnée de prurit violent et d'œdème des membres postérieurs. On trouve dans le sang de nombreuses microfilaires (95-100 sur une lame).

Les 3 premiers jours, l'animal reçoit des injections intra-veineuses de 2, 3,5, 5 centimètres cubes de Fouadine. Ces injections sont bien supportées. Le nombre des microfilaires diminue progressivement de 95 à 46, puis à 10, puis finalement à 3, pour disparaître le 3^e^ jour. Les 5^e^ et 6^e^ jours, on fait une nouvelle injection de 5 centimètres cubes de Fouadine. L'animal n'a plus été soumis à aucun contrôle.

Il est guéri.

Observation IV. — *Chien n° 7,* croisement de brack-pointer, 2 ans (poids : 19 kgs.); on trouve des microfilaires et on voit des lésions cutanées de filariose.

Le 1^er^ jour du traitement, on injecte par voie intra-veineuse 2 centimètres cubes; le 2^e^ jour, 3,5 cc.; les 3^e^, 5^e^, 6^e^ et 8^e^ jours, 5 centimètres cubes, et le 9^e^ jour, 8 centimètres cubes de Fouadine. Après cette dernière injection apparaissent de légères manifestations d'intolérance. Le nombre des microfilaires diminue progressivement pendant le traitement et les parasites disparaissent complètement de la circulation le jour de la dernière injection. L'animal supporte le traitement sans perte de poids.

Le contrôle d'abord quotidien, puis hebdomadaire, fait pendant 95 jours et poursuivi plus tard à divers intervalles pendant 5 mois, a toujours été négatif. Les symptômes cliniques ont disparu pendant la durée du traitement. L'animal est guéri.

Observation V. — *Chien n° 9,* 1 an 1/2 (poids : 20 kilogrammes); on trouve des microfilaires dans le sang et une dermite. Le traitement a été appliqué dans les mêmes conditions que pour le chien n° 7, mais il a reçu en plus, par voie intra-musculaire, 3,5 cc. de Fouadine en même temps que la dernière injection intra-veineuse.

Le contrôle microscopique a été fait dans les mêmes conditions que précédemment et on n'a plus trouvé de parasite.

L'animal est guéri.

Observation VI. — *Chienne n°* 8, brack, 3 ans (poids : 20 kilogrammes); nombreuses microfilaires dans le sang et des symptômes cliniques cutanés de dermite chronique (dépilation, dermite, sclérodermie, plaies décubitales). A la chasse l'animal a des vertiges et des syncopes.

L'animal reçut par voie intra-veineuse de la Fouadine : les 3 premiers jours, 2, 3,5 et 5 centimètres cubes; les 5e et 6e jours, 5 centimètres cubes; le 8e, on lui injecte 5 centimètres cubes par voie intra-musculaire, et le 10e jour, 13 centimètres cubes, dont 8 par voie intra-veineuse et 5 par voie intra-musculaire.

Pendant la durée du traitement, l'animal a présenté des phénomènes d'intolérance assez prononcés.

Nous avons observé qu'après les 3 premières injections le nombre des microfilaires a diminué, tandis que, pendant les jours de repos, leur nombre augmenta sensiblement pour diminuer ensuite graduellement jusqu'à la complète disparition des microfilaires de la circulation.

Les microfilaires ont disparu de la circulation le 9e jour de traitement. Leur recherche dans le sang faite journellement pendant 2 mois, et plus tard, de temps en temps, pendant 7 mois encore, a toujours été négative. Les lésions cutanées se sont améliorées après les premières injections et ont disparu complètement vers la fin du traitement.

L'animal est guéri.

Observations VII et VIII. — *Chien n° 10,* croisement brack-pointer, 1 an 1/2 (poids : 17,200 kgs.). *Chienne n° 11,* croisement brack-pointer, 1 an 1/2 (poids : 16,200 kgs.).

Les deux frères présentent des microfilaires dans le sang et des lésions de dermite pustuleuse aiguë.

Pendant 8 jours, les 2 chiens ont reçu 7 injections représentant au total 30,5 cc. de Fouadine, par voie intra-veineuse : le 1er jour, 2 centimètres cubes; le 2e jour, 3,5 cc.; le 3e jour, 5 cc.; après une pause de 24 heures, ils reçurent pendant les 4 jours suivants 5 cc. Les microfilaires ont disparu du sang au 8e jour du traitement.

Le traitement assez héroïque a produit des phénomènes d'intolérance après la dernière injection, se manifestant par un état de prostration, par de la rhinite, du lumbago et une légère dyspnée.

Le sang du chien n° 10 fut contrôlé pendant 45 jours. Celui du chien n° 11 le fut journellement pendant 3 mois; mais à de

plus longs intervalles, on continua ce contrôle pendant 5 mois; le résultat de l'examen a toujours été négatif.

Les deux chiens sont guéris.

Observation IX. — *Chien n° 106,* pointer, 6 ans (poids : 24,600 kgs.); il a de nombreuses microfilaires dans le sang, ainsi que des lésions cliniques cutanées avec des nodosités rondes, dures, indolores; les poils de la tête, des oreilles et de la nuque sont hérissés.

L'animal reçut par voie intra-veineuse, pendant les 3 premiers

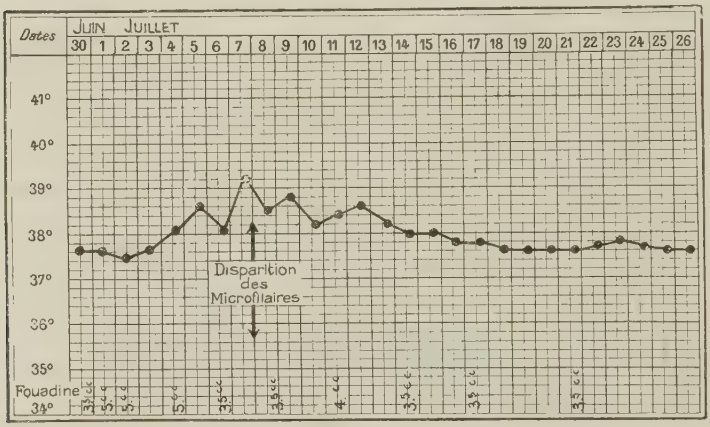


Fig. 5. — Observation IX. Chien n° 106.

jours, 3,5, 5 et 5 centimètres cubes de Fouadine. Après la troisième injection, les lésions cutanées et le nombre des microfilaires diminuèrent, mais des phénomènes d'intolérance apparurent, caractérisés par de l'œdème dans la région testiculaire et par une plaie superficielle du scrotum. Le 6e jour, il reçut une nouvelle injection de 5 centimètres cubes de Fouadine, après laquelle apparut une orchite double, de l'œdème, de la dyspnée avec l'œdème pulmonaire. Le 8e jour, les phénomènes d'intolérance s'étant améliorés, on injecta à nouveau 3,5 cc. de Fouadine. Après cette injection, les microfilaires disparurent de la circulation. Les 10e, 13e, 16e, 19e, 23e jours, l'animal reçut 3,5, 4 et 3,5 cc. de Fouadine.

Les phénomènes d'intolérance ont complètement disparu après le 10e jour; les microfilaires ont également disparu après

les 5 premières injections, alors que l'animal avait reçu en tout 18,5 cc. de Fouadine.

Le contrôle du sang pour les microfilaires a été négatif après les examens quotidiens répétés pendant 45 jours et, pendant encore 4 mois, de temps en temps.

Ce cas peut servir comme modèle de traitement modéré, vu que les 3 premiers jours on a administré une grande quantité de substance, et que les injections ultérieures furent moindres, plus rares et faites après la disparition des microfilaires.

L'animal est guéri.

Observation X. — *Chien n° 12,* croisement de griffon, 8 ans (poids : 21,600 kgs.), très infesté. Dans les préparations microscopiques, en examinant seulement le contour de la préparation, on a pu compter 350 microfilaires. L'animal présentait de légères lésions cutanées accompagnées de prurit.

Il reçut pour traitement 3 injections intra-veineuses (pendant 3 jours consécutifs), soit 3,5, 3,5 et 5 centimètres cubes de Fouadine; le 5e jour il reçut 5 centimètres cubes. Après cela les microfilaires disparurent complètement de la circulation.

Pour compléter le traitement, l'animal a encore reçu 18 centimètres cubes de Fouadine en 5 injections dans l'intervalle de 17 jours. Le prurit et les lésions cutanées disparurent après la quatrième injection, mais en échange apparurent les phénomènes d'intolérance manifestés par une orchite double et des plaies sur les bourses.

Le contrôle du sang fut pratiqué pendant 6 mois; pendant les 3 premiers mois le sang a été examiné journellement, on n'a jamais trouvé de microfilaires.

L'animal est guéri.

Observation XI. — *Chien n° 13,* chien de berger, 10 ans (poids : 27,100 kgs.), avec à peu près 300 microfilaires par goutte de sang et œdème des membres antérieurs et des jarrets, avec de la dépilation.

On pratiqua 3 injections quotidiennes de 5 centimètres cubes chacune. Le 4e jour, les microfilaires disparurent de la circulation. Ce même jour, l'animal reçut 3,5 cc. de Fouadine et présenta, 24 heures après, des phénomènes d'intolérance : tristesse, inappétence, rhinite exsudative et orchite double. Une semaine après, les symptômes disparurent et l'animal guérit, mais les gommes du testicule persistèrent.

Le 7e jour, il reçut une nouvelle injection de 4 centimètres

cubes, et encore 3 injections de 3,5 cc. de Fouadine chaque 3 jours. Après ces injections, les plaies testiculaires disparurent.

Le contrôle microscopique du sang, fait quotidiennement pendant 80 jours, et de temps en temps pendant 3 mois, a toujours été négatif.

L'animal est guéri.

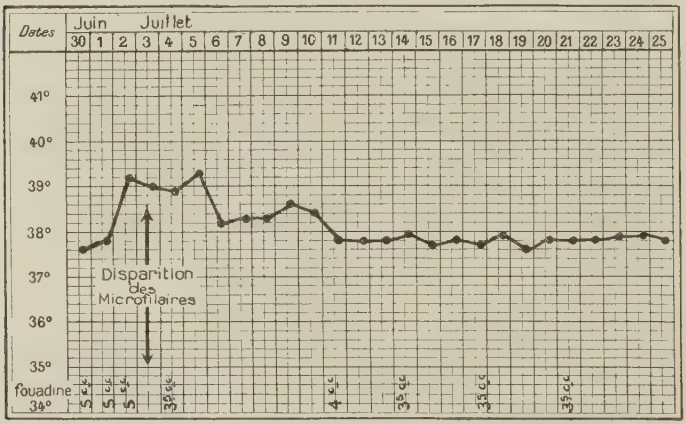


Fig. 6. — Observation XI. Chien n° 13.

Observation XII. — *Chien n° 14*, brack, 6 ans (poids : 23,700 kgs.), avec 6-7 microfilaires par goutte de sang, chancre auriculaire profond ayant détruit partiellement le pavillon de l'oreille, sclérodermie et dépilation.

L'animal reçut, les 2 premiers jours, 3,5 cc. de Fouadine en injections intra-veineuses. Le 3e jour, il en reçut 5 centimètres cubes. Le nombre des microfilaires diminua brusquement. Le 5e jour, on réinjecta encore 5 centimètres cubes. Après une pause de 6 jours (pendant laquelle le nombre des microfilaires était resté bas), on réinjecta à nouveau l'animal, le 11e jour, avec 5 centimètres cubes de Fouadine. Après cette dernière injection apparurent des plaies sur les bourses, mais les microfilaires disparurent définitivement.

L'animal reçut en plus, et à 3 jours d'intervalle, 5 et 7 centimètres cubes de Fouadine. Après ces injections le chancre auriculaire guérit complètement, seule la sclérodermie persista.

L'animal est guéri.

Observation XIII. — *Chien n° 15,* setter, 4 ans (poids : 20,400 kgs.), propriété de M. le professeur G. S..., avec 6-7 microfilaires par champ microscopique. L'animal est maigre, a des quintes de toux, du coryza et un état très avancé d'anémie. Cet animal, possédant des qualités exceptionnelles pour la chasse, avait perdu pendant les derniers temps une partie de ces qualités, spécialement l'odorat.

Après avoir subi pendant 8 jours un traitement symptomatique pour le catarrhe bronchique, il reçut par voie intra-veineuse : les 1er et 2e jours, 3,5 cc.; les 3e et 5e jours, 5 centimètres cubes de Fouadine. Chaque injection était suivie de vomissements. 15 minutes après la dernière injection, les microfilaires disparurent de la circulation.

Le 7e jour, l'animal reçut par voie intra-veineuse 6 centimètres cubes; 24 heures après apparurent les phénomènes d'intolérance (vomissements, tremblements musculaires persistants, pâleur des muqueuses oculaires, fièvre [39°9], et somnolence). Tous ces phénomènes ont disparu après 8 jours.

Le contrôle du sang a été fait pendant 2 ans 1/2, le résultat a toujours été négatif.

Après la disparition des microfilaires, le chien a engraissé et a repris ses qualités pour la chasse.

Il est guéri.

Observation XIV. — *Chien n° 16,* bouledogue, 5 ans (poids : 20,500 kgs.); propriétaire, C. V... On trouve des microfilaires dans le sang et des symptômes cliniques caractéristiques très évidents : plaies eczémateuses sur les régions faciales, sur l'hypocondre, le métacarpe, le métatarse, l'ischion avec de la sclérodermie chronique, de la dépilation et du prurit très prononcé.

L'animal avait été traité pendant un an et demi, pour ses lésions cutanées, sans résultat.

Nous avons traité le chien par plusieurs injections intra-veineuses, soit 3,5 cc. le 1er jour et 5 centimètres cubes les 2e, 3e et 7e jours. Après la dernière injection, le nombre des microfilaires du sang a diminué dans le rapport de 20 à 1, et même dans certaines préparations on n'en trouve plus.

Les lésions cutanées (la sclérodermie et les plaies eczémateuses), ainsi que le prurit, ont complètement disparu. L'état général de l'animal s'est beaucoup amélioré.

Pour des raisons de force majeure, les injections n'ont pu être poursuivies et le traitement est resté de ce fait incomplet.

Observation XV. — *Chien n° 26,* chien de garde, âgé de 6 ans (pesant 14,200 kgs.), ayant beaucoup de microfilaires dans le sang. Pendant les 3 premiers jours on lui injecte, par voie intra-veineuse, 3,5, 3,5, 3 centimètres cubes de Fouadine. Le 4e jour apparaît une orchite double et plus tard les autres symptômes d'intolérance : la rhinite, l'œdème de la muqueuse nasale et des paupières. Malgré cela, on lui injecte encore 3,5 cc. de Fouadine.

Le 7e jour de traitement, les microfilaires avaient disparu de la circulation, mais l'orchite se maintint et des douleurs musculaires violentes apparurent, sans réaction thermique. Grâce au traitement symptomatique approprié, les symptômes cliniques d'intolérance disparurent après quelques jours.

Le contrôle microscopique du sang a été fait pendant 60 jours et a toujours été négatif.

L'animal est guéri.

Observation XVI. — *Chien n° 27,* chien de garde, âgé de 5 ans (pesant 13,500 kgs.), ayant beaucoup de microfilaires dans le sang.

On a essayé un traitement à fortes doses en lui injectant, par voie intra-veineuse, 5 centimètres cubes de Fouadine pendant 3 jours consécutifs.

Après la dernière injection, le nombre des microfilaires a beaucoup diminué, mais le 5e jour de traitement apparurent des phénomènes graves d'intolérance : orchite exsudative double, œdème des membres, du museau et de la face.

Le 7e jour, lorsque les phénomènes d'intolérance étaient au maximum, les microfilaires avaient disparu du sang, mais l'on observait un commencement de nécrose avec dilacération du dartros accompagnés de prostration, de myalgies très intenses. Après un traitement approprié, l'animal entra en convalescence.

Le contrôle microscopique du sang, fait pendant 30 jours, a toujours été négatif pour les microfilaires.

L'animal est guéri.

Observation XVII. — *Chienne n° 100,* brack allemand, âgée de 8 ans (pesant 27,400 kgs.), appartenant à M. le professeur A. C... Elle est maigre, présente des lésions cutanées intenses sur toute la surface du corps ; de la sclérodermie plus accentuée à la tête, aux pavillons auriculaires, aux extrémités des membres, de l'œdème des lèvres et des paupières, de la dépilation presque générale et du prurit intense. A l'examen microscopique, on a trouvé 100-200 microfilaires par goutte de sang.

L'animal est affaibli et âgé. Il reçut par voie intra-veineuse, les deux premiers jours, 3,5 cc., et le 3e jour, 5 centimètres cubes

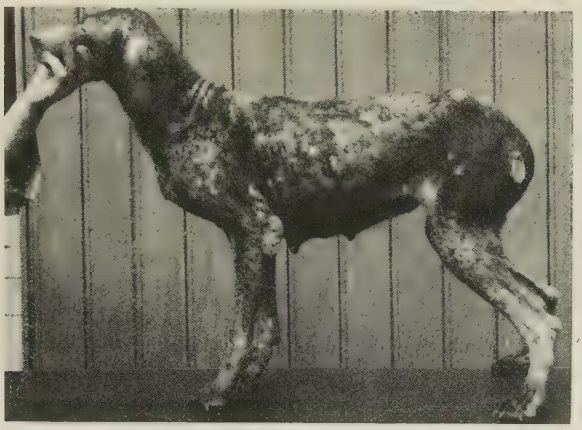


Fig. 7. — Observation XVII. Chienne n° 100, avec lésions cutanées intenses.

de Fouadine. 24 heures après la troisième injection, le nombre des microfilaires augmenta énormément, atteignant 750 par

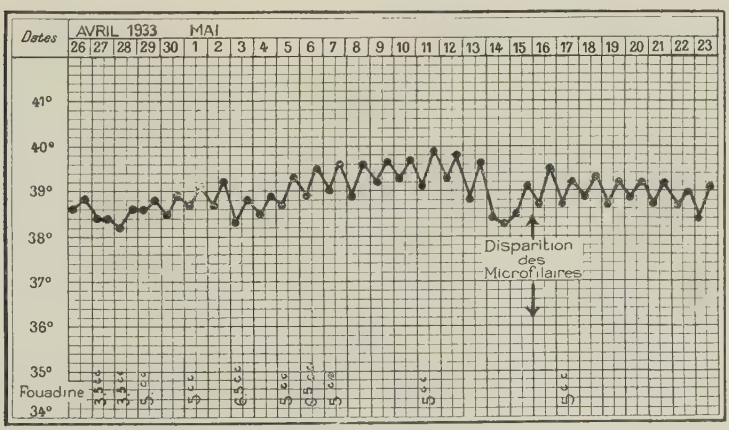


Fig. 8. — Observation XVII. Chienne n° 100.

goutte de sang (en examinant seulement les contours de la préparation).

Le 5e jour, l'animal reçut encore 5 centimètres cubes ; le 7e jour, 6,5 cc. Le nombre des microfilaires se maintient élevé, arrivant jusqu'à 28 par champ microscopique.

Le 9e jour, l'animal reçut encore 5 centimètres cubes ; le 10e jour, 6,5 cc., et le 11e jour, 5 centimètres cubes.

A partir du 9e jour, le nombre des microfilaires diminua beaucoup, de sorte que le 13e jour, sur 25 champs microscopiques, on a trouvé une seule microfilaire.

L'animal présentant des phénomènes d'intolérance, on fit une pause de 4 jours, pendant lesquels l'examen microscopique du sang montra des parasites, malgré l'amélioration notable des lésions cutanées.

Pendant ces 4 jours, l'animal reprit son appétit et sa vivacité. Le 15e jour, il reçut encore 5 centimètres cubes de Fouadine ; après cette injection, l'examen microscopique du sang fut négatif. Le 21e jour, l'animal reçut encore une injection de 5 centimètres cubes de Fouadine.

Tous les symptômes cliniques cutanés ont disparu dans l'intervalle de 30 jours ; l'état de l'animal s'est beaucoup amélioré.

L'examen du sang a été fait pendant 30 jours et a toujours été trouvé négatif. Cette chienne a été revue après une année, l'examen du sang fut toujours négatif.

L'animal est guéri.

Observation XVIII. — *Chienne n° 102,* brak (20 kilogrammes), âgée de 1 an 1/2, bien entretenue ; propriétaire, Mme M... On trouve beaucoup de microfilaires dans le sang. L'animal présente un prurit intense et des zones de dépilation avec des lésions cutanées sanguinolentes sur la ligne supérieure du cou, sur les parois thoraco-abdominales, dans la région axiale et ainsi que sur les membres. L'animal étant jeune et bien entretenu, on lui a appliqué un traitement massif, lui injectant dès le 1er jour 6 centimètres cubes de Fouadine. Après 24 heures, le nombre des microfilaires était beaucoup plus élevé, de sorte que l'animal a reçu encore 5 centimètres cubes, et après 48 heures, de nouveau 5 centimètres cubes.

Après ces 3 injections, les plaies ont guéri et le prurit a presque complètement disparu ; pourtant le nombre des microfilaires resta très élevé jusqu'au 7e jour de traitement, où le parasite disparut complètement de la circulation.

Le 10e jour, l'animal reçut 6,5 cc., et le 17e jour, encore 5 centimètres cubes de Fouadine.

L'animal est complètement guéri.

Il a été encore contrôlé pendant 15 jours. La guérison se maintient.

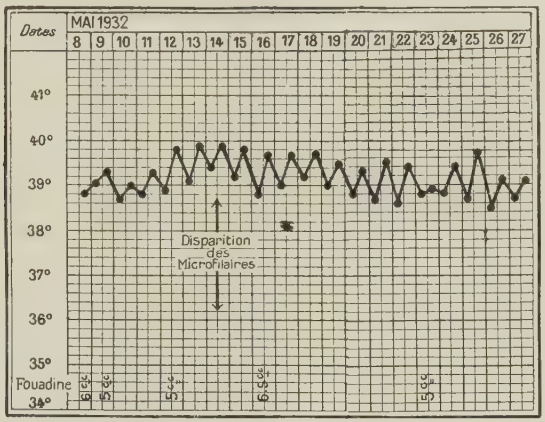


Fig. 9. — Observation XVIII. Chienne n° 102.

Observation XIX. — *Chienne n° 120,* brak (18 kilogrammes); propriétaire, M. P... On trouve beaucoup de microfilaires dans le sang ; l'animal présente des symptômes cliniques de filariose : plaies multiples cutanées, prurit violent et sclérodermie.

Les 1er et 3e jours de traitement, on injecte 3,5 cc. de Fouadine. Après la dernière injection, on trouve beaucoup de microfilaires dans le sang. L'animal reçoit encore 3 injections de 5 centimètres cubes à 24 heures d'intervalle ; après la dernière injection, les microfilaires disparaissent de la circulation, mais des phénomènes d'intolérance apparaissent, ainsi que de la fièvre et de la rhinite. Les lésions cutanées sont améliorées.

Le contrôle a été fait pendant 52 jours, le résultat étant toujours négatif.

L'animal a gagné 4 kilogrammes. Il est guéri.

CONCLUSIONS

En conclusion : on constate que la Fouadine possède des propriétés parasitotropes remarquables dans la filariose canine, de sorte qu'elle peut être considérée comme ayant une action nettement spécifique.

Pour que le traitement soit efficace, il faut que l'organisme de l'animal malade soit continuellement maintenu sous l'action de la substance médicamenteuse, jusqu'à la disparition des microfilaires qui coïncide presque toujours avec l'apparition des symptômes d'intolérance.

Afin d'obtenir ce résultat, les animaux malades sont injectés les 3 premiers jours avec de fortes quantités de Fouadine, tel qu'il est indiqué dans le tableau ci-joint. Les injections ultérieures sont faites à des intervalles de 24-48 heures, et même à de plus grands intervalles, selon le degré de réaction de l'animal.

Les phénomènes d'intolérance qui ne sont pas trop graves doivent être combattus selon les symptômes en employant spécialement des toni-cardiaques, des diurétiques et en supprimant les injections de Fouadine jusqu'à leur disparition.

Pour être sûrs que la stérilisation de l'organisme des animaux malades a été complète, on fait ultérieurement encore 3 à 4 injections de Fouadine à de plus grands intervalles (5 à 8 jours).

L'amélioration et la guérison des symptômes cliniques aigus de filariose peuvent être observées même après les 3 premières injections, tandis que les anciennes lésions guérissent un peu plus tard.

Chez les mâles, l'indice certain de la destruction des microfilaires coïncide avec l'apparition de l'orchite, qui peut être simple ou double, parfois même accompagnée de véritables gommes testiculaires.

La Fouadine en petites doses peut provoquer une réaction spéciale de l'organisme, se manifestant par une résistance accrue des microfilaires vis-à-vis de la substance médicamenteuse. Dans ces cas, pour obtenir la stérilisation complète, les animaux doivent être laissés au repos, après quoi le traitement est repris avec de fortes doses.

En général, le traitement consiste en 3 à 5 injections massives, par voie intra-veineuse, faites pendant 3 à 8 jours, afin d'obtenir

la disparition des microfilaires, et en 4 à 5 injections faites ultérieurement à plusieurs jours d'intervalle, nécessitant en général 9 à 20 jours pour établir la stérilisation.

Le traitement total consiste donc en 7 à 10 injections de Fouadine, faites en une moyenne de 10-18 jours, et avec une quantité totale de 0,0103-0,1844 gr. de Sb. III par kilogramme de poids.

Schématiquement, les 3 doses curatives des 3 premiers jours peuvent être calculées comme ci-dessous :

Pour un poids de	Il est nécessaire d'injecter les 1er jour cc.	2e jour cc.	3e jour cc.
10 kilogrammes.....	2,5	2,5	3,5
ou	2,5	3,5	3,5
15 —	2,5	3,5	5
ou	3,5	3,5	5
20 —	3,5	3,5	5
ou	3,5	5	5
30 —	3,5	5	5
ou	5	5	5

Après 24 heures de repos, on réinjecte le 5e jour la dernière dose, ou une dose moindre dans le cas où les phénomènes d'intolérance se produisent.

Les injections intra-veineuses de Fouadine sont très bien supportées par les chiens : elle ne produisent ni choc, ni aucune autre manifestation morbide ; les injections intra-musculaires sont douloureuses, les injections sous-cutanées sont très douloureuses et produisent, même en quantités minimes, des inflammations, abcès ou même nécrose de la peau.

N° de l'observation	N° du chien	Poids	Age	Sexe	Ponr obtenir la disparition des microfilaires de la circulation			Traitement complet appliqué			
					Quantité de Fouadine injectée (en cc.)	Nombre d'injections	Jours nécessaires au traitement	Quantité Sb. III qui revient par kg. poids (en gr.)	Quantité totale de Fouadine injectée (en cc.)	Nombre d'injections	Jours de traitement	Quantité Sb. III qui revient par kg. poids vif (en gr.)
		kgs. gr.	ans		cc.			gr.	cc.			gr.
I¹.....	2	23,300	5	masc.	19,5 i.-v. et 4,75 i.-m.	8	15	0,01227	24, 25 i -v. et i.-m.	8	15	0,01227
I².....	1	28,900	3 1/2	masc.	21,5 i -v.	4	7	0,0063	38,5 i -v.	8	17	0,0113
II.....	5	26,300	5	masc.	19,5 i.-v.	4	5	0,0063	48.5 i.-v.	10	16	0,0156
III.....	6	15,700	14	masc.	10,5 i.-v.	3	3	0,0056	20,5 i.-v.	5	6	0,0111
IV.....	7	19,000	2	masc.	33,5 i.-v.	7	9	0,0148	33.5 i.-v.	7	9	0,0148
V.....	9	20,000	1 1/2	fém.	25,5 i.-v.	6	7	0,0108	36.5 i.-v.	7	9	0,01547
VI.....	8	20,000	3	fém.	33,5 i.-v. et 10 i.-m.	7	9	0,01844	33.5 i.-v. et 10 i.-m.	7	9	0,01844
VII.....	10	17,200	1 1/2	masc.	30,5 i.-v.	7	8	0,0150	30.5 i.-v.	7	8	0.0150
VIII.....	11	16,400	1 1/2	fém.	30,5 i.-v.	7	8	0,0158	30,5 i.-v.	7	8	0,0158
IX.....	106	24,600	6	masc.	18,5 i.-v.	5	8	0,0063	40 i.-v.	9	22	0,0138
X.....	12	21,600	8	masc.	17 i.-v.	4	5	0,0066	35 i.-v.	9	22	0,0137
XI.....	13	27,100	10	masc.	15 i.-v.	3	3	0.0046	33 i.-v.	7	21	0,0103
XII.....	14	23,700	6	masc.	22 i.-v.	5	11	0,0079	39 i.-v.	8	19	0,0139
XIII.....	15	20,400	4	masc.	17 i.-v.	4	5	0.0070	23 i.-v.	5	6	0,0095
XV.....	26	14,200	6	masc.	13,5 i -v.	4	5	0,0080	19,5 i.-v.	5	7	0,0116
XVI.....	27	13,500	5	masc.	15 i.-v.	3	3	0,0085	15 i.-v.	3	3	0.0085
XVII.....	100	27,400	8	fém.	56 i.-v	11	27	0.0173	56 i.-v.	11	27	0,0173
XVIII....	102	20,000	1 1/2	fém.	16 i.-v.	3	4	0,0068	27,5 i.-v.	5	17	0,0116
XIX.....	120	18,000	5	fém.	37 i.-v.	8	16	0,01744	37 i.-v.	8	16	0,01744

BIBLIOGRAPHIE

ALLAIN : v. NATTAN-LARRIER.

ALMEIDA (E.), ARMANDO (E.) et FONTAINHAS (R.) : « L'antimosan et le kala-azar. » (*Congrès intern. de Méd. trop. et d'Hygiène du Caire,* 1928, p. 1171.)

ANTOINE : « Kystes fibreux provoqués par des filaires. » (*Bull. de la Soc. de Path. exotique,* 1910, p. 88.)

ARANDA : v. MAZZA.

ARCHIBALD : « Notes on a case of tubercular Leprosy treated by intravenous injections of Stibenyl. » (*J. of trop. Med. und Hyg.,* Bd. 24, 1921, p. 227.)

ARMANQUÉ et GONZALES: « Studies on the formol and Wassermann reactions. » (*J. of infect. Diseases,* t. 30, 1922, p. 443.)

BARNÉOUD : « La bilharioze vésicale au Maroc. » (*La Pratique médicale,* n° 2, 1930, p. 5.)

BAUCHE (J.) et NOËL (B.) : « Sur deux cas de filariose du chien. » (*Bull. Soc. Path. exotique,* 1911, p. 478.)

BÉNAZET : v. CONOR.

BETASH (BITACHE) : v. KHALIL.

BIDAULT : *Arch. de Méd. expérim.,* mai 1904.

BILLET (A.) et FAYET : « Sur la filariose du ligament suspensor du boulet chez le cheval, avec éosinophilie accentuée. » (*Bull. Soc. de Path.,* 1906, p. 79.)

BILLET (A.) : « Eosinophilie dans un cas de filariose sous-cutanée de Médine. » (*Bull. Soc. de Biol.,* 1906, p. 891.)

ID. : « *Filaria Loa* avec œdèmes intermittents, hémo-microfilaires et éosinophilie accentuée. » (*Bull. Soc. de Biol.,* 1906, p. 1151.)

BONAFOUS : v. LE GALL.

BOS (A.) : « Essais thérapeutiques avec l'antimosan dans le surra chez les petits animaux d'expériences. » (*Tydschrift voor Diegeneeskunde,* n° 16, 1931.)

BRACHMACHARY : « Chemotherapy of Antimonial compounds in kala-azar infection. » (*The indian J. of Med. Research,* Bd. 10, 1923.)

BRACHMACHARI (UPENHRANATH) : « Chemoterapy of Antimonial compounds. » (*Congrès du Caire,* 1929, p. 769.)

BRETON : v. CADIOT.

BRUMPT : *Précis de parasitologie.*

CADIOT et BRETON : *Médecine canine,* 1914.

CADIOT, LESBOUYRIES, RIES : *Traité de Méd. des Animaux domestiques,* 1925.

CARL (W.) : v. KLIENEBERGER.

CATALA (R.) : « Un caso de Kala-azar trado por el Stibenyl. » (*Arch. exp. de Pediatria,* VIII, 11, 1924, p. 579.)

CAWSTON (F.-G.) : « Antimony and Emetine in Bilharzia Disease. » (*Lancet,* 19 novembre 1921.)

ID. : *Congrès du Caire,* 1928, p. 775.

CÉBÉ (J.) : « Contribution à l'étude de l'action curative de quelques composés organiques d'antimoine employés seuls ou associés au Naganol dans le surra expérimental. » (*Bull. Soc. Path. exotique,* 1932, p. 354.)

CERNAIANU : *Berl. tierärztl. Wochenschr.,* 1928, t. 2, p. 879.

CHRISTIANSEN (W.-G.) : « Organic Derivatives of Antimony. » (*Book Dept. The Chemical catalog. New-York,* 1925.)

CHRISTOPHERSON (I.-B.) : « Intravenous Injections of Antimonium Tartaratumin Bilharziosis. » (*Britisch Med. Journ.,* 14 décembre 1918.)

Id. : « The treatment of Bilharzia disease. » (*Congrès du Caire*, 1928, pp. 665-929.)
Ciuca (A.) : « La Dourine. » (*Bull. Int. des Epizooties*, 1933, Paris.)
Ciuca (A.) et Neagu (A.) : *Tratamentul durinei cu salvarsan şi neosalvarsan*, Bucarest, 1925.
Clapier : « Les porteurs de kystes filariens (Guinée). » (*Bull. Soc. Path. exotique*, 1917, p. 150.)
Claude (B.) : « Essais sur la formol-gélification en général. » (*Thèse* n° 22, Toulouse, 1929.)
Clerc (A.) : v. Wurtz.
Congrès intern. de Méd. trop. et d'Hygiène du Caire, 1928.
Conor (A.) et Bénazet (L.) : « Formule leucocytaire et l'image d'Arneth dans la bilharzioze. » (*Bull. Soc. Path, exotique*, 1912, p. 396.)
Curasson : « Essai de traitement de la microfilariose du Charognard. » (*Bull. Soc. Path. exotique*, 1920, p. 655.)
Eyraud : v. Vélu.
Fabre : « Pseudo-rage du chien causée par la *Filaria immitis*. » (3e Congrès de Méd. trop., Saïgon, 1913, in *Arch. de Méd. navale*, 1914.)
Fargher et Gray : « The chemoterapy of Antimony. » (*J. of. Pharm. and exp. Thérap.*, Bd. 18, 1921, n° 5.)
Fayet : v. Billet.
Fiebiger und Trautmann : *Lehrbuch der Hist. und vergl. mikros. Anatomie der Haussäugetiere*, 1931.
Fiebiger : *Die Tierischen Parasiten der Haus und Nutztiere*, 1914.
Fontaine et Huguier : *Dict. vétérinaire*, 1923.
Fontainhas (R.) : v. Almeida.
Fülleborn : *Arch. f. Sch. u. Trop. Hyg.*, t. XI, n° 20, 1907, p. 635.
Id. : *Handbuch der path. Microorganismen*, t. VI, f. 28, 1929, pp. 1039-1224.
Fülleborn und Rodenwald : *Filarien. Real Enciclop. d. gesamten Heilk.*
Gauthier (C.) : « Microfilaires du sang coïncidant avec un filaire de l'œil. » (*Soc. de Biol.*, 1905, p. 624.)
Gendron : v. Renault.
Gilbert et Weinberg : *Traité du sang*, t. I et II, 1912.
Id. : *Données nouvelles sur le sang*, t. I et II, 1932.
Gonzalès : v. Armanqué.
Gray : v. Fargher.
Guyomarc'h : v. Ringenbach.
Hammouda : v. Khalil.
Henry : v. Ralliet.
Huguier : v. Fontaine.
Hutyra und Marek : *Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. Fünfte Auflage.*
Ipoustegny : v. Velu.
Iwanoff : v. Yakimoff.
Khalil (M.) : *Ankilostomiasis and Bilharziosis in Egypt*, Le Caire, 1924.
Id. : « A comparative Study of the Methods utilised in the treatment of Bilharziasis. » (*Arch. f. Sch. und. Tropen Hyg.*, Bd. 30.)
Khalil, Nazmi, Peter, Salah el Din et Betash : « Die Behandlung der Schistosomiasis mit intramusk. Fuadin inj. » (*Deuth. med. W.*, 1929, p. 1125.)
Id. : « Traitement de la bilharziose par la Fouadine, nouveau dérivé de l'antimoine. » (*La Pratique méd.*, 1929, p. 3.)
Khalil (M.-H.) et Betash : « Treatment of Bilharziasis with a new compound « Fouadin » Report on 2041 cases. » (*Lancet*, 1er février 1930, p. 234.)
Khalil, Schmidt, Hammouda et Weese : « Treatment of bilharziasis. » (*Beihefte z. Arch. Schiffs. u. Trop. Hyg.*, 1931.)

KLIENEBERGER und CARL (W.) : *Die Blut-Morphologie der Laboratorium-Tiere,* 1912.

KLIPPEL et MONIER-VINARD : « Premier cas de kala-azar d'origine marocaine. Guérison par Stibenyl. » (*Bull. Soc. Méd. des Hôp.,* 1922, t. 38, p. 76.)

KOSUGE (J.) : « Beiträge zur Biologie der Microfilaria immitis. » (*Arch. f. Sch. u. Trop. Hyg.,* t. XXVIII, 1924, p. 340.)

KUHN : v. UHLENHUTH.

LABERNADIE : *La lèpre en Guyane française,* 1927.

LANOY, NICOLLE (M.) et PRIEUR : « De l'action de quelques composés organiques d'antimoine. » (*Bull. Soc. Path. exotique,* 1932, p. 65.)

LE GALL and BONAFOUS : *Brit. Med. Journ.,* 11 juin 1921.

LÉGER (M.) et QUEINNEC : « Quelques mots sur un traitement de la filariose Loa. » (*Bull. Soc. Path. exotique,* 1932, p. 690.

LÉGER (M.) : v. MATHIS.

LESBOUYRIES : v. CADIOT.

LIVON (J.) et PÉNAUD : « Un cas de *Filaria Loa* avec éosinophilie marquée. » (*Bull. Soc. de Biol.,* 1906, p. 510.)

MAREK : v. HUTYRA.

MATHIS et LÉGER (M.) : « Distribution géographique de la filariose humaine dans l'Indochine du Nord. » (*Bull. Soc. Path. exotique,* 1910, p. 142.)

MAZZA et ROSENBUSCH : « Sobre una microfilaria sp. de los perros del morte de la Republica. » (*Bol del Inst. de Clin. Quirurg,* 1926, p. 130.)

MAZZA et ARANDA : « Essais avec la Fouadine dans la leishmaniose américaine. » (*Arch. f. Schiffs. u. Trop. Hyg.,* t. 35, 1931, p. 583.

MONIER-VINARD : v. KLIPPEL et RENAULT.

MORENAS : « Un cas de filariose dû à Acanthocheilonema perstans avec manifestations cliniques et grosse éosinophilie. » (*Bull. Soc. Path. exotique,* 1929.)

MOTAS (S.-C.) : « Observațiune asupra unui caz de filarioza hematică la câine. » (*Bull. Soc. de Med. Veterinara,* Bucarest, 1903, p. 41.)

MUNTIU (N.) : v. POPESCO (FR.).

NAPIER (L.-E.) : « The treatment of kala-azar by Heyden 471. » (*The Indian Medical Gazette,* 1923.)

NATTAN-LARRIER et ALLAIN : « L'équilibre leucocytaire chez les noirs atteints de trypanosomiase. » (*Bull. Soc. Path. exotique,* 1908, p. 360.)

NAZMI : v. KHALIL.

NEAGU (A.) : v. CIUCA (A.).

NEUBER (E.) : « Filaria sanguinis hominis in Hadjunanas Ungarn. » (*Wiener Klin. Woch.,* 1929, p. 1398.)

NICOLLE : v. LANOY.

NOC (F.) : « Filaires d'Indochine. » (*Bull. Soc. Path. exotique,* 1908, p. 369.)

ID. : « Chimiothérapie des filarioses. » (*Ibid.,* 1923, p. 126.)

NOËL (B.). : v. BAUCHE.

PÉNAUD : v. LIVON.

PETER : v. KHALIL.

PETER und WOLFRATSHAUSEN : « Die Bekämpfung der Bilharzia in Aegypten. » (*Beiheft 3 zum Arch. für Schiffs. u. Tropen Hyg.,* Bd. 33, 1929.)

PETITDIDIER : v. VELU.

PHOTINOS : « Un nouveau traitement du bouton d'orient (chlorhydrate d'émétine). » (*Bull. Soc. Path. exotique,* 1920, p. 290.)

PLANTUREUX : *C. R. Soc. de Biol.,* t. 88, 1923, p. 1189.

POPESCO (FR.) : « Filarioza la câine. Incercări de tratament cu Neostibosan. » (*Rev. Veter. Milit.,* n° 3, 1932.)

ID. : « Traitement de la filariose du chien par la Fouadine. » (*Ibid.,* Bucarest, n° 1, 1933.)

Id. : « Sur la valeur de la réaction Gaté-Papacostas (formol-gélification) dans la filariose du chien. » (*C. R. Soc. de Biol.*, t. CXIII, 1933, p. 1493.)
Id. : « L'action thérapeutique de la Fouadine sur la filariose canine. » (*Ibid.*, t. CXIV, 1933, p. 219.)
Popesco (Fr.) et Muntiu (N.) : « L'éosinophilie et l'image d'Arneth dans la filariose du chien. » (*C. R. Soc. de Biol*, t. CXIV, 1933, p. 1343.)
Popesco (Fr.) : « Des foyers de filariose canine en Roumanie. » (*Archiva Veterinara*, an. XXV, n°s 5-6, 1933.)
Popesco (Fr.) et Sassler : « Enquête sur un foyer de filariose canine en Roumanie. » (*C. R. Soc. de Biol.*, 1933, p. 1491.)
Popovici : « Filarioza la câine. » (*Thèse* n° 268, Ecole sup. de Méd. vétér., Bucarest, 1916.)
Prieur (M^lle^) : v. Lanoy.
Queinnec : v. Léger.
Railliet et Henny (A.) : « Remarques au sujet des deux notes de Bauche et Noël. » (*Bull. Soc. Path. exotique*, 1911, p. 485.)
Renault, Monier-Vinard et Gendron : « Un cas de kala-azar infantile d'origine française traité par le Stibenyl. » (*Bull. et Mém. Soc. Méd. des Hôp.*, décembre 1922.)
Ries : v. Cadiot.
Ringenbach et Guyomarc'h : « La filariose dans les régions de la nouvelle frontière Congo-Cameroun. » (*Bull. Soc. Path. exotique*, 1914, p. 619.)
Rodhain et Branden (van den) : « Recherches diverses sur la *Filaria volvulus*. » (*Bull. Soc. Path. exotique*, 1916, p. 186.)
Rodhain : « Les filaires de l'Afrique tropicale ; rôle pathogène. » (*Bull. Soc. Path. exotique*, 1931, p. 882.)
Rodenwaldt : *Arch. f. Schiff. u. Trop. Hyg.*, t. XIII, 1909, p. 215.
Id. : v. Fülleborn.
Rosenbusch : v. Mazza.
Rouffiandis : « Notes sur la filariose dans l'archipel des Comores. » (*Bull. Soc. Path. exotique*, 1910, p. 145.)
Rousseau : « Filariose au Cameroun. » (*Bull. Soc. Path. exotique*, 1919, p. 35.)
Salah el Din : v. Khalil.
Sassler : v. Popesco.
Schmidt (H.) : « Das Antimon in der neueren Medizin. » (*Arch. f. Schiffs. u. Trop. Hyg.*, 1, Beiheft, 1922.)
Schmidt (H.) : v. Uhlenhut et Khalil.
Schokhor : v. Yamimoff.
Simitch-Ced : « Anopheles maculipennis. » (*Glasnik-Beograd*, t. III, n° 6, p. 39.)
Sorrel (F.) : « Absence d'éosinophilie dans un cas de *Filaria Loa*. » (*Bull. Soc. Path. exotique*, 1911, p. 205.)
Stephens (J.) : « Note on the pathology of tropical swelings. » (*J. of trop. Medicine*, 1905, p. 107.)
Tejera (E.) : « La leishmaniose américaine au Venezuela. » (*Bull. Soc. Path. exotique*, 1920, p. 239.)
Thiroux : « De l'action de l'émétique d'aniline sur la filariose. » (*Bull. Soc. Path. exotique*, 1910, p. 203.)
Thykalas: « La supériorité de l'émétine sur tous les schistomicides connus jusqu'ici. » (*Congrès du Caire*, vol. IV, 1932, p. 551.)
Trautmann : v. Fiebiger.
Uhlenhut, Kuhn (H.) und Schmidt : « Chemotherapeutische Antimonstudien. » (*Arch. f. Schiffs. u. Trop. Hyg. Path. u. Therapie exotischer Krankheiten*, Bd. 29, 1925, p. 623.)
Van den Branden et van Hoof : « Le Stibényl dans la Trypanosomiase humaine. » (*Ann. Soc. belge de Méd. trop.*, 1922.)

Van den Branden : v. Rodhain.
Velu (H.), Zottner et Ipoustegny : « Essais du traitement de la Theilériose bovine nord-africaine par l'antimosane. » (*Bull. Soc. Path. exotique,* 1932, p. 136.)
Velu (H.), Eyraud (E.) et Petitdidier : « Recherches sur la leishmaniose canine. » (*Bull. Soc. Path. exotique,* 1932, p. 136.)
Walravens : *Ann. Soc. belge de Méd. trop.,* 1927.
Weese : v. Khalil.
Weinberg : v. Gilbert.
Wirth (Dr D.) : *Grundlagen einer klinischen Hämatologie der Haustiere,* 1931.
Wolfratshausen : v. Peter.
Wurtz et Clerc (A.) : « Eosinophilie intense provoquée par la *Filaria Loa.* » (*Soc. de Biol.,* 1903, p. 1704.)
Zottner : v. Velu.
Yakimoff (W.-L.) : « La formule leucocytaire du sang des malades renfermant la *Filaria medinensis.* » (*Bull. Soc. Path. exotique,* 1914, p. 192.)
Yakimoff, Schokhor et Colabs : « Microfilaires des ânes. » (*Bull. Soc. Path. exotique,* 1916, p. 220.)
Yakimoff, Schokhor et Iwanoff : « Microfilaires des chameaux. » (*Bull. Soc. Path. exotique,* 1916, p. 222.)
Yakimoff et Colabs : « Microfilaires des animaux au Turkestan russe. » (*Bull. Soc. Path. exotique,* 1917, p. 102.)

NOTE SUR LES ALTÉRATIONS RÉNALES PROVOQUÉES CHEZ LE COBAYE PAR LES INJECTIONS DE GRANDES QUANTITÉS DE SÉRUM DE CHEVAL (1)

par

Virgile ANGHELESCO et Paul ROÏBAS

(Travail de l'Institut d'Histologie de la Faculté de Médecine
[Directeur : Professeur St. Besnea]
et du Laboratoire central de l'Hôpital Colentina
[Médecin en Chef : Docteur S. Bratiano])

L'action toxique des protéines étrangères injectées en grandes quantités à un animal neuf a fait déjà l'objet d'études expérimentales assez nombreuses. Parmi les organes qui s'en ressentent le plus, il semble bien qu'il faut considérer le rein en premier lieu.

Partant de cette idée, nous nous sommes proposé d'étudier l'action d'un sérum d'usage thérapeutique assez répandu (le sérum antigangreneux provenant de chevaux immunisés) injecté en quantités variables chez le cobaye normal.

Voici la manière dont nous avons procédé :

Pour étudier l'effet de ce sérum sur le rein, sans l'association d'un facteur pathologique antérieur, nous nous sommes adressés à des cobayes normaux. Ces expériences ont porté sur 9 cobayes. Le premier groupe de 3 cobayes (poids : 500, 368 et 360 gr.) ont reçu chacun 48 centimètres cubes de sérum antigangreneux, à raison de 3 centimètres cubes journellement.

Un deuxième groupe de 3 cobayes (poids : 494, 570 et 289 grammes) ont reçu chacun au total 60 centimètres cubes de sérum antigangreneux, à raison de 5 centimètres cubes par jour.

Le troisième groupe de 3 cobayes (poids : 616, 568 et 630 grammes) ont reçu chacun 280 centimètres cubes de sérum antigangreneux, à raison de 20 centimètres cubes par jour.

(1) Travail reçu en novembre 1933.

Le tableau ci-dessous montre la marche de nos expériences :

Cobayes n°	Poids (gr.)	Quantité de sérum journalière (en cc.)	Quantité totale (en cc.)	Observations
1	400	3	3	Coccidiose.
2	500	3	48	Sacrifié.
3	368	3	48	—
4	360	3	48	—
5	494	5	60	—
6	570	5	60	—
7	289	5	60	—
8	460	20	280	Coccidiose.
9	616	20	280	Sacrifié en agonie.
10	568	20	280	Sacrifié.
11	630	20	280	Sacrifié en agonie.

Les cobayes n^{os} 9, 10 et 11 ont présenté le 11^{e} jour, environ 2 à 3 minutes après l'injection, une légère agitation, de légers tremblements et du prurit. Ces phénomènes ont disparu au bout de 10-15 minutes.

Les animaux ont été sacrifiés par saignée.

Les fragments de rein ont été fixés au formol, à 10 %, au Regaud IV, au Bouin.

Les coupes à la paraffine ont été colorées à l'hématoxyline-éosine, à l'hématoxyline de Heidenhain, au Van Gieson, au Ciaccio-vert lumière, au Dominici.

EXAMEN MACROSCOPIQUE DES REINS

A l'examen macroscopique des pièces, on n'a rien observé de remarquable, sauf que les reins des cobayes n^{os} 9, 10 et 11, ayant reçu de fortes doses de sérum antigangreneux, présentaient d'évidentes lésions congestives. Les lésions sont donc, même à l'œil nu, en rapport avec la quantité de sérum introduite.

EXAMEN MICROSCOPIQUE

Pour faciliter la description, nous avons groupé les cobayes en 3 catégories, selon la quantité de sérum injecté.

Lésions du 1er groupe. — Dans ce groupe on trouve les cobayes qui ont reçu au total 48 centimètres cubes de sérum. Les lésions rénales n'intéressent que certaines parties du parenchyme, un

certain nombre de tubes contournés qui présentent seulement quelques cellules rénales altérées.

Dans les cellules des tubes contournés, les lésions consistent en un état granuleux (intumescence trouble de Virchow) (fig. 2); on n'observe plus la bordure en brosse de ces cellules; la zone apicale apparaît (avec la méthode de Dominici) en rouge intense et d'aspect granuleux, tandis que la zone basale est orangée, ne montrant que de rares bâtonnets ou bien parfois de nombreuses granulations éosinophiles réfringentes.

Colorées par la méthode de Heidenhain, les cellules des tubes contournés montrent des bâtonnets fragmentés sous forme de chaînes de grains de petite taille, inégales, remplissant en partie ou en totalité le protoplasma cellulaire. Parfois on remarque, dans certaines cellules des tubes contournés, la présence de quelques grains hypertrophiés à forte affinité pour la laque hématoxylinique, en même temps que fortement acidophiles, prenant avec une intensité remarquable l'éosine, dans les colorations simples. Ces gouttes, dans quelques cellules, remplissent en totalité le protoplasma. Quelquefois, elles prennent un aspect annulaire; dans ces cas, la partie basale de la cellule prend un aspect vacuolaire.

Les coupes colorées au Ciaccio-vert lumière montrent que ces granulations fines ou hypertrophiées, ainsi que les bâtonnets basaux, restés intacts, prenant le rouge écarlate, démontrent d'une façon éclatante l'origine à partir du chondriome des granulations, constituant l'intumescence trouble de Virchow.

Les noyaux de ces éléments altérés sont parfois normaux, mais le plus souvent vésiculeux à aspect hydropique, à chromatine rassemblée en blocs périphériques, accolée à la membrane nucléaire. On trouve de très rares karyokinèses.

Dans les tubes excréteurs, on ne remarque pas de lésions épithéliales, mais ils sont parfois remplis d'un liquide albumineux, granuleux, dont certains grains prennent la laque hématoxylinique comme les grains que nous avons décrits dans les cellules des tubes contournés; plus rarement, la lumière de ces tubes contient des leucocytes.

DESCRIPTION MICROSCOPIQUE DES LÉSIONS RÉNALES DU DEUXIÈME GROUPE

Ce groupe est constitué par les cobayes qui ont reçu au total 60 centimètres cubes de sérum antigangréneux.

Les reins présentent des lésions plus étendues, mais toujours partielles et en foyers. Un nombre plus considérable de tubes contournés sont lésés et presque toutes les cellules de ces tubes sont altérées. Les bâtonnets basaux subissent au maximum la transformation granuleuse, et presque tous les grains provenus de leur segmentation sont hypertrophiés.

L'aspect général des cellules est vacuolaire et parfois leur pôle apical est fenêtré; dans quelques cellules, la vacuolisation du protoplasma est très avancée, les cellules présentant une lyse presque totale.

Les éléments à grosses gouttes éosinophiles, et qui prennent en même temps la laque hématoxylinique, sont beaucoup plus nombreux que dans le premier groupe. La coloration de ces grains est très variable; parfois ils se colorent en totalité par la méthode de Heidenhain, parfois ils ne se colorent qu'à leur périphérie, tandis qu'un certain nombre ne prennent plus du tout le colorant.

Certains tubes contournés présentent une forte desquamation épithéliale.

Les anses de Henle présentent des lésions identiques, mais beaucoup moins intenses que les tubes contournés.

Les glomérules ne montrent qu'une légère congestion, quelques-uns montrent une cavité légèrement élargie et remplie d'un liquide albumineux.

Le rein d'un seul cobaye présentait une prolifération des cellules endothéliales de la capsule de Bowmann. Le reste des glomérules est indemne.

Le tissu conjonctif est presque normal, mais on remarque pourtant aisément un certain degré d'œdème interstitiel au niveau du tissu conjonctif de la capsule.

DESCRIPTION DES LÉSIONS MICROSCOPIQUES DU TROISIÈME GROUPE

Dans ce groupe, les cobayes ont reçu journellement 20 centimètres cubes de sérum antigangreneux, jusqu'à concurrence de 280 centimètres cubes.

Les lésions déjà décrites sont plus intenses, prenant un aspect *diffus*; presque tous les tubes contournés et de nombreuses anses ascendentes de Henle sont altérés. Toutes les cellules des tubes présentent la dégénérescence « à grosses gouttes », avec ses caractères fondamentaux : *a)* affinité pour la laque à l'hématoxyline de Heidenhain; *b)* acidophilie vis-à-vis des colorants acides et notamment de l'éosine; *c)* coloration en rouge orangé par la méthode de Ciaccio; *d)* réfringence non colorée; *e)* monoréfringence au microscope polariseur. Tous ces caractères se retrouvent du reste aux bâtonnets basaux des cellules rénales normales, fait qui montre nettement leur origine.

Les glomérules sont relativement peu atteints, mais parfois on trouve des glomérules très congestionnés qui se sont rompus, donnant naissance à des foyers hémorragiques intratubulaires et extratubulaires.

Les tubes contournés, tributaires de ces glomérules lésés, sont très altérés, formant des foyers de nécrobiose très évidents avec destruction totale des cellules épithéliales. Le tissu conjonctif interstitiel est normal, ne présentant pas de lésions inflammatoires ou d'infiltrations.

L'action des inoculations de substances protéiques sur le rein est un problème qui a déjà préoccupé un grand nombre d'auteurs. Parmi ceux-ci nous citerons : Legendre, Hirtz, Guinon, Thibierge, qui considéraient, il y a longtemps, que le sérum antidiphtérique provoquait des néphrites graves; ce fait a été contesté par d'autres auteurs; Moussous, Arloing, Marfan, Chantemesse et Weil, Hallé, ne croient pas que l'albuminurie due à l'élimination des protéines hétérogènes provoquerait de graves lésions.

Mais par contre Lecorché, Talamon, en injectant du blanc d'œuf aux chiens, ont trouvé des lésions rénales passagères. Pour quelques auteurs, il est absolument nécessaire que le rein soit lésé antérieurement (Chiray).

Les lésions rénales provoquées par l'introduction de protéines étrangères ont été aussi étudiées en rapport avec le choc anaphylactique, par Halfer et Wolisch, qui ont trouvé des lésions de dégénérescence épithéliale. On a étudié de même les effets des substances protéiques administrées *per os* (M. Théodore, Arthum, etc.), et on a trouvé des lésions glomérulaires et la présence dans l'urine d'albumine et de cylindres (Neuburg, Marsh). Huckel a expérimenté aussi la toxine de Dick, Dommargk et Neuhaus les sérums hétérogènes, et ils ont trouvé dans ce cas des

lésions glomérulaires et épithéliales et parfois même des phénomènes d'infiltration.

Jelin (Odessa) trouve des lésions rénales même après l'injection de sérum du même animal. Du reste on a observé des lésions rénales après la transfusion chez l'homme (Tzanck).

Nous avons cité ces recherches à cause de la convergence de ces résultats avec ceux obtenus par nous. Dans nos expériences, là où la quantité de sérum injecté a été moindre, les lésions consistaient dans des phénomènes dégénératifs de néphrose ou tubulo-néphrite parenchymateuse. Dans d'autres cas, à côté de ces lésions, on a trouvé des lésions de glomérulo-tubulo-néphrite en foyers. Malgré que ces lésions puissent être réversibles, elles sont tout de même assez graves par leurs possibilités évolutives. Nous avons voulu, par ces études histologiques, attirer l'attention sur les lésions rénales provoquées par les fortes doses de sérum.

CONCLUSIONS

Le sérum de cheval (antigangreneux) injecté à des cobayes normaux détermine l'apparition de lésions rénales. Ces lésions sont constituées par des dégénérescences des cellules épithéliales des tubes contournés du type de *néphrose,* rarement associées à des lésions de *glomérulo-tubulo-néphrite en foyers.*

L'importance de ces lésions est en rapport direct avec la quantité de sérum introduite (en l'espèce sérum antigangreneux).

LÉGENDE DE LA PLANCHE I

1, Chondriome hypertrophique granuleux (col. Heidenhain).
2, Aspect granuleux et vacuolisé du protoplasma (col. hémat.-éos.).
3, Caryolyse, cytolyse, grosses gouttes intracellulaires (colorables au Heidenhain). Congestion péritubulaire (Heidenhain).
4, Le protoplasma apparaît granuleux. Canalicules avec liquide albuminoïde. Noyaux pycnotiques (hémat.-éos.).
5, Canalicules dilatés, phénomènes de nécrose cellulaire totale dans quelques-uns d'entre eux (hémat.-éos.).
6, Lésions de desquamation et d'hyalinisation.
7, Lésions glomérulaires congestives avec liquide granuleux et albuminoïde intracapsulaire, destruction des tubes contournés (hémat.-éos.).
8, Hémorragies inter et intratubulaires.

Le Gérant : J. CAROUJAT. NIORT. — IMP. TH. MARTIN

PLANCHE I
(V. Anghelesco et P. Roïbas.)

Fig.1.

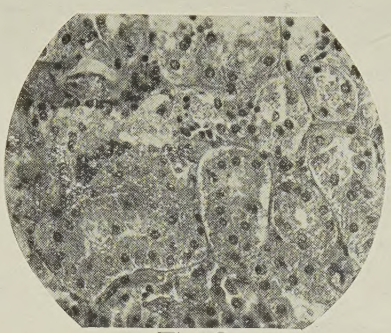


Fig.2.

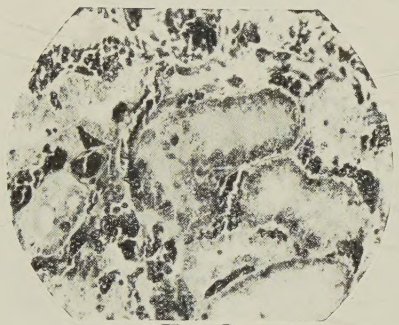


Fig.3.

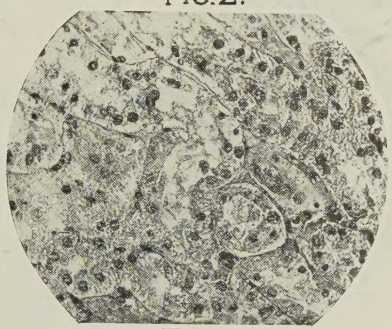


Fig.4

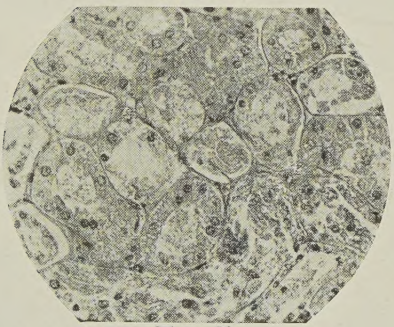


Fig.5.

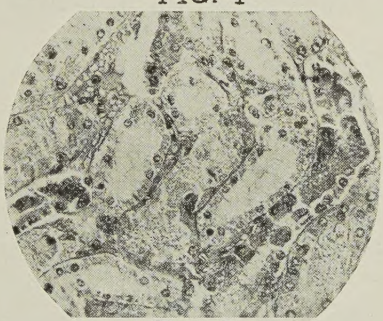


Fig.6.

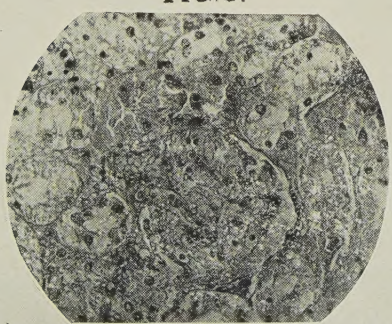


Fig.7.

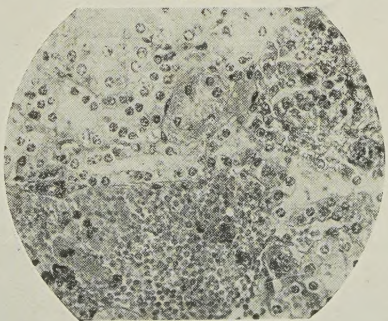


Fig.8.

LÉGENDE DE LA PLANCHE II

1, Lésions cellulaires incipientes. Chondriome polymorphe. Noyaux à chromatine périphérique. La bordure en brosse a disparu.

2, Vacuoles. Chondriome granuleux, rare. Cylindres hyalins. Grosses gouttes à affinité pour la laque hématoxylinique.

3, Lésions des noyaux dans les cellules des tubes contournés (hémat.-éos.).

4, Les cellules des tubes contournés apparaissent fenêtrées dans la région apicale. Lésions nucléaires.

5, Surcharge des cellules des tubes contournés avec gouttes écarlatophiles.

Fig. 1

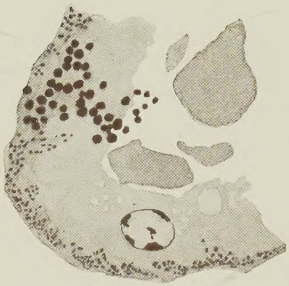


Fig. 2

Fig. 3

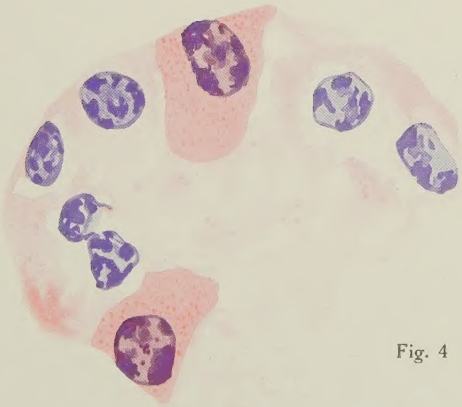


Fig. 4

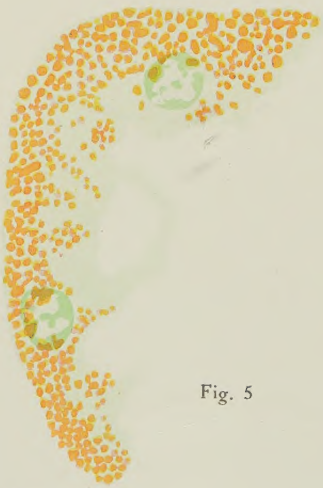


Fig. 5